N° d'enregistrement
au C.N.R.S. A.O. 6546

THÈSE DE DOCTORAT D'ÉTAT ES-SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS VI

par

Monsieur Jean-Pierre L'HARDY

pour obtenir

le Grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse :

Recherches sur la reproduction et le développement des Turbellariés Calyptorhynques

Soutenue le 26 JUIN 1972

devant la Commission d'examen :

MM. BOCQUET, Président

VOVELLE,
LÉVI,
SWEDMARK, Examinateurs

N°d'enregistrement

au C.N.R.S. A.O. 6546

THÈSE DE DOCTORAT D'ÉTAT ES-SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS VI

par

Monsieur Jean-Pierre L'HARDY

pour obtenir

le Grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse :

Recherches sur la reproduction et le développement des Turbellariés Calyptorhynques

Soutenue le 26 JUIN 1972

devant la Commission d'examen :

MM. BOCQUET, Président

VOVELLE,
LÉVI,
SWEDMARK, } Examinateurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

AVANT PROPOS.

Avant d'exposer les résultats de mes recherches, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur Ch. BOCQUET qui a suivi avec beaucoup de bienveillance la réalisation de ce travail et n'a cessé de me prodiguer conseils et encouragements.

C'est grâce à Monsieur le Professeur Cl. LEVI que je me suis orienté vers l'étude des Turbellariés mésopsamniques et je lui renouvelle tous mes remerciements pour l'intérêt qu'il a constamment porté à mes recherches.

Je remercie tout particulièrement Monsieur B. SWEDMARK, Directeur de la Station zoologique de Kristinekergs qui m'a fait bénéficier, au cours de nombreuses conversations amicales, de sa grande expérience de la faune interstitielle.

Que Monsieur le Professeur J. VOVELLE trouve ici l'expression de ma très vive reconnaissance. Ses conseils judicieux et ses critiques amicales m'ont fourni à plusieurs occasions une aide précieuse.

Il m'est agréable de remercier Monsieur le Professeur J. BOUILLON du soutien qu'il m'a apporté à différentes reprises et de la sympathie qu'il m'a toujours témoignée.

Je suis très reconnaissant à Monsieur R. LEJUEZ, Maître de Conférence à la Faculté des Sciences du Mans d'avoir bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire et m'accorder sa confiance amicale.

Je tiens enfin à rendre hommage au personnel de la Station Biologique de Roscoff et du Service de Biologie de la Faculté des Sciences du Mans dont j'ai pu apprécier l'inlassable dévouement.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

HISTORIQUE 3

MATERIEL 7

PREMIERE PARTIE

BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DES CALYPTORHYNQUES

CHAPITRE I. - STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DES ORGANES REPRODUCTEURS 14

I. - Appareil génital mâle 15

A. - Anatomie topographique de l'appareil génital mâle. . . . 15

1. Testicule, p. 15. - 2. Canal déférent, p. 16. - 3. Organe copulateur, p. 16.

B. - Anatomie microscopique du testicule 17

C. - Spermatogénèse 18

1. Observations antérieures, p. 18. - 2. Observations personnelles, p. 19 ; a) Polycystis nägelii, p. 19 ; b) Gyratrix hermaphroditus, p. 22 ; c) Baltoplana magna, p. 26. - 3. Conclusion, p. 27.

II. - Appareil génital femelle 28

A. - Anatomie topographique du tractus génital femelle . . . 28

1. Germigène, p. 28. - 2. Vitellogène, p. 29. - 3. Utérus, p. 29. - 4. Bourse séminale, p. 30. - 5. Bourse copulatrice, p. 30. - 6. Receptacle séminal, p. 31.

B. - Anatomie microscopique du germigène 32

1. Cas général, p. 32. - 2. Cas des espèces à germigènes globuleux, p. 32.

C. - Evolution des cellules ovogénétiques 33

1. Phase de multiplication, p. 33. - 2. Phase d'accroissement, p. 34. - 3. Conclusion, p. 36.

CHAPITRE II. - ACCOUPLEMENT ET FECONDATION. 37

I. - Insémination 37

A. - Observations antérieures 37

1. Injection hypodermique, p. 37. - 2. Copulation, p.38.

B. - Observations personnelles 39

1. Gyratrix hermaphroditus, p. 39. - 2. Polycystis nägelii, p. 39.

II. - Mise en réserve du sperme. 40

III. - Fécondation 41

A. - Observations antérieures 42

B. - Observations personnelles sur Polycystis nägelii 42

IV. - Maturation des ovocytes et caryogamie. 43

A. - Observations antérieures 44

B. - Observations personnelles sur Polycystis nägelii 45

1. Première division de maturation, p. 45. - 2. Seconde division de maturation, p. 47. - 3. Evolution des pronuclei et caryogamie, p. 48.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534912_0001

C. - Observations sur la place de la maturation chez les Calyptorhynques 49

CHAPITRE III. - FORMATION ET STRUCTURE DE LA PONTE 50

I. - Fonctionnement des vitellogènes 51
A. - Anatomie microscopique 51
B. - Evolution des cellules vitellines 51
1. Multiplication des vitellocytes, p. 51. - 2. Accroissement des vitellocytes à globules vitellins, p. 52. - 3. Accroissement des vitellocytes à cytoplasme homogène, p. 53.

II. - Etude descriptive de la formation de la ponte 53
A. - Capsule ovigère de *Gyratrix hermaphroditus*. 53
1. Formation de la paroi de la capsule, p. 53. - 2. Formation du pédoncule de la capsule, p. 55.
B. - Capsule ovigère d'*Acrorhynchidus robustus* 56
C. - Cocon de *Polycystis nägelii*. 57

III. - Données hsitochimiques sur l'élaboration et le durcissement de la coque ovigère. 60
A. - Historique 60
B. - Matériel 61
C. - Histochimie des cellules vitellines 62
1. Les vitellocytes à globules vitellins, p. 62 ; a) Recherches des polysaccharides, p. 62 ; b) Recherche des protéines, p. 63 ; c) Recherche des lipides, p. 66 ; d) Recherche des composés phénoliques, p. 66 ; e) Recherche des phénoloxydases, p. 68 ; f) Conclusion, p. 69. - 2. Les vitellocytes à cytoplasme homogène, p. 71 ; a) Recherche des polysaccharides, p. 71 ; b) Recherche des protéines, p. 71; c) Conclusion, p. 71.

IV. - Sécrétion utérine et fixation de la capsule ovigère 72
A. - Etude histochimique des glandes utérines et de leur sécrétion 72
1. - Recherche des polysaccharides, p. 72. - 2. Recherche des protéines, p. 72. - 3. Recherche des composés phénoliques, p. 73. - 4. Recherche des phénoloxydases, p. 74.
B. - Conclusion 74

V. - Structure de la capsule ovigère 75
A. - Morphologie. 75
1. Taille, p. 75. - 2. Forme, p. 76. - 3. Coloration, p. 78. - 4. Sécrétion utérine, p. 78.
B. - Anatomie microscopique 79
1. Coque ovigère, p. 79. - 2. Cellules germinales, p.80
3. Cellules vitellines, p. 81.

DEUXIEME PARTIE

DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES CALYPTORHYNQUES.

CHAPITRE IV. - REMARQUES PRELIMINAIRES SUR L'EMBRYOLOGIE DES ECTOLECITHOPHORES 86

I. - Historique 86

II. - Détermination du plan du premier clivage chez les Calyptorhynques 89

III. - Numérotation des blastomères 90
A. - Observations antérieures 90
B. - Discussion 92

IV. - Particularités de l'évolution nucléaire des blastomères . . 93
A. - Observations antérieures 93
B. - Observations personnelles 93

CHAPITRE V. - DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE <u>POLYCYSTIS NAGELII</u> 95

I. - Segmentation 95
A. - Oeuf indivis. 95
B. - Premières étapes de la segmentation 95
1. Formation du stade 2, p. 95. - 2. Formation du stade 3, p. 96. - 3. Formation du stade 4, p. 97. - 4. Formation du stade 5, p. 98.
C. - Phase de multiplication cellulaire. 98
1. Divisions conduisant au stade 8, p. 98. - 2. Divisions conduisant au stade 12, p. 99. - 3. Formation de la morula, p. 99.

II. - Formation de l'embryon 100
A. - Evolution de la masse vitelline 100
B. - Mise en place des ébauches embryonnaires 101

III. - Organogénèse 102
A. - Tégument 102
B. - Ganglions cérébroïdes 103
C. - Trompe 104
D. - Pharynx 105
1. Formation de l'ébauche pharyngienne, p. 105. - 2. Formation du canal pharyngien, p. 105. - 3. Différenciation de la paroi pharyngienne, p. 106. - 4. Formation de la cavité oesophagienne, p. 107.
E. - Parenchyme 107
F. - Organes génitaux 107

IV. - Anatomie de l'animal à l'éclosion 107

V. - Organogenèse postembryonnaire 109
A. - Tégument 110
B. - Ganglions cérébroïdes 110
C. - Trompe 110
D. - Appareil digestif 111
E. - Parenchyme 112

F. - Organes génitaux 112
1. Formation de l'ébauche génitale, p. 112. - 2. Différenciation des testicules, p. 113. - 3. Différenciation des germigènes, p. 113. - 4. Différenciation des vitellogènes, p. 113. - 5. Formation de l'atrium et des annexes génitales, p. 114.

CHAPITRE VI. - DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE D'ACRORHYNCHIDES ROBUSTUS. 116

I. - Segmentation 116
A. - Oeuf indivis 116
B. - Premières étapes de la segmentation. 117
1. Formation du stade 2, p. 117. - 2. Formation du stade 3, p. 118. - 3. Formation su stade 4, p. 118. - 4. Formation du stade 5, p. 118. - 5. Formation du stade 6, p. 119.
C. - Phase de multiplication cellulaire 119
1. Division conduisant au stade 9, p. 119. - 2. Formation de la morula p. 119.

II. - Formation de l'embryon 120
A. - Evolution de la masse vitelline 120
B. - Mise en place des ébauches embryonnaires 121

III. - Organogenèse 122
A. - Tégument 123
1. Epithélium, p. 123. - 2. Musculature, p. 123.
B. - Ganglions cérébroïdes 124
C. - Trompe 125
1. Formation de l'ébauche de la trompe, p. 126. - 2. Formation de la poche de la trompe, p. 126. - 3. Formation de la trompe proprement dite, p. 127.
D. - Pharynx 127
1. Formation de l'ébauche pharygienne, p. 127. - 2. Formation du canal pharyngien, p. 128. - 3. Différenciation de la paroi pharyngienne, p. 129. - 4. Formation de la cavité oesophagienne, p. 129.
E. - Parenchyme 130
F. - Organes génitaux 130

IV. - Anatomie de l'animal à l'éclosion 130

CHAPITRE VII. - DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE BALTOPLANA MAGNA 132

I. - Segmentation 132
A. - Oeuf indivis 132
B. - Premières étapes de la segmentation 133
1. Formation du stade 2, p. 133. - 2. Formation du stade 3, p. 133. - 3. Formation du stade 4, p. 133. - 4. Formation du stade 5, p. 134.
C. - Phase de multiplication cellulaire 134
1. Divisions conduisant au stade 8, p. 134. - 2. Divisions conduisant au stade 10, p. 135. - 3. Formation de la morula, p. 135.

II. - Formation de l'embryon 136
A. Evolution de la masse vitelline 136
B. - Mise en place des ébauches embryonnaires 136

III. - Organogénèse 138
A. - Tégument 138
B. - Ganglions cérébroïdes 139
C. - Trompe 140
1. Formation de l'ébauche de la trompe, p. 140. - 2. Formation de la poche de la trompe, p. 141. - 3. Formation de la trompe proprement dite, p. 141. - 4. Formation des glandes latérales de la trompe, p. 143.
D. - Pharynx 143
1. Formation de l'ébauche pharyngienne, p. 143. - 2. Formation du canal pharyngien, p. 144. - 3. Différenciation de la paroi pharyngienne, p. 145.
E. - Organes génitaux 148

IV. - Anatomie de l'animal à l'éclosion 149

CHAPITRE VIII. - DISCUSSION ET COMPARAISON 151

I. - Caractères généraux du développement des Calyptorhynques. . 151
A. - Segmentation 151
1. Segmentation précoce, p. 151 ; a) Cas général, p. 152 ; b) Cas de Polycystis nägelii, p. 152 ; c) Remarques, p. 153. - 2. Multiplication cellulaire, p. 154.
B. - Formation de l'embryon 155
1. Absorption du vitellus, p. 155 ; a) Cas général, p. 155 ; b) Cas de Polycystis nägelii, p. 155 ; c) Remarques, p. 156. - 2. Mise en place des blastèmes embryonnaires, p. 156.
C. - Organogénèse 157
1. Tégument, p. 157. - 2. Système nerveux, p. 158. - 3. Trompe, p. 159 ; a) Cas des Polycystidae, p. 159 ; b) Cas de Baltoplana magna, p. 159 ; c) Remarques, p. 160. 4. Appareil digestif, p. 161. - 5. Appareil génital, p.162.
D. - Anatomie de l'animal à l'éclosion 162
1. Etude comparative de quelques espèces, p. 163. - 2. Remarques, p. 163.

II. - Discussion 164

III. - Les modalités du développement chez les Turbellariés . . 166
A. - Segmentation 166
1. Endolécithophores à segmentation spirale typique, p. 166. - 2. Endolécithophores à segmentation spirale par duettes, p. 167. - 3. Ectolécithophores à segmentation spirale typique, p. 168. - 4. Ectolécithphores à segmentation adiaphorétique, p. 168. - 5. Ectolécithophores à segmentation atypique, p. 169 ; a) Plagiostomoïdes, p. 169; b) Dalyellioïdes, p. 170 ; c) Typhloplanoïdes, p. 170.

IV. - Comparaison du développement des Calyptorhynques avec celui des autres Ectolécithophores 171

V. - Hypothèses sur l'origine et l'évolution des Calyptorhynques 172

CONCLUSION 175

RESUME 181

BIBLIOGRAPHIE 187

INTRODUCTION

Par la simplicité relative de leur organisation générale, la présence simultanée d'organes reproducteurs mâles et femelles et la diversité de leur cycle biologique, les Plathelminthes occupent parmi les Métazoaires une place particulière qui suscite depuis longtemps l'intérêt des zoologistes. En fait, une analyse plus précise montre que le niveau des connaissances sur la biologie de ces animaux, varie dans une grande mesure avec les groupes considérés. Chez les Cestodes et les Trématodes au sens large, c'est-à-dire comprenant l'ensemble des Monogènes et des Digènes que la plupart des auteurs modernes considèrent comme deux Classes distinctes, on possède une bibliographie abondante non seulement sur la morphologie et l'anatomie mais aussi sur le mode de développement, le cycle biologique, la cytologie, l'ultrastructure et la physiologie. En revanche, les connaissances relatives aux Turbellariés sont presque exclusivement d'ordre anatomique et systématique, et seul le petit groupe des Triclades Paludicoles a fait l'objet de travaux biologiques et physiologiques assez approfondis.

Etant donné l'intérêt théorique et pratique des Plathelminthes parasites, il est bien naturel que la plupart des helminthologues se soient consacrés à leur étude plutôt qu'à celle des Turbellariés. De plus, l'absence d'ouvrage de détermination et la nécessité de recourir aux descriptions originales dispersées dans de nombreux périodiques scientifiques, les difficultés de récolte et d'élevage ne favorisent pas non plus les recherches sur cette Classe de Plathelminthes.

Il n'est donc pas étonnant dans ces conditions que les données sur la biologie des Turbellariés résultent presqu'exclusivement d'observations fortuites, de valeur très inégale et publiées au hasard dans des travaux consacrés le plus souvent à un autre sujet.

Dans ce domaine, les Turbellariés Calyptorhynques demeurent particulièrement mal connus à la fois parce qu'ils constituent, à quelques rares exceptions près, un groupe systématique découvert récemment et aussi parce que leurs représentants sont en grande majorité mésopsammiques et de ce fait relativement rares et difficiles à récolter. Il était donc intéressant d'entreprendre l'étude biologique des Calyptorhynques qui en plus de son intérêt descriptif évident pouvait fournir des arguments phylogéniques importants sur la position de ce groupe au sein des Turbellariés et sur ses éventuelles relations avec les autres Classes de Plathelminthes.

Dans la première partie du présent travail, j'ai regroupé les données relatives à la biologie de la reproduction des Calyptorhynques. La seconde partie est consacrée à l'étude du développement embryonnaire suivi en totalité chez trois espèces présentant des modalités variées à cet égard.

HISTORIQUE

Durant le XIXe siècle, la systématique des Turbellariés s'est trouvée confrontée à un certain nombre de difficultés dont certaines n'ont pu être résolues qu'à la suite de patientes recherches. Il faut signaler tout d'abord la mauvaise qualité des observations réalisées avec un matériel optique insuffisant et pratiquées exclusivement sur des animaux vivants plus ou moins comprimés entre deux lames de verre, ainsi que les confusions innombrables avec des représentants d'autres phylum zoologiques, Némertes et Archiannélides (*Dinophilus*) en particulier. Enfin, la grande diversité des types d'organisation de chaque groupe de Turbellariés constitue objectivement un obstacle important à toute tentative de classification.

Ce n'est qu'après le perfectionnement du microscope et l'emploi généralisé de cet instrument que se révèle peu à peu la diversité des Turbellariés. Le développement de la zoologie de terrain et la création de Stations Biologiques contribuent beaucoup à la découverte de formes nouvelles. Avant la fin du XIXe siècle, presque tous les groupes actuellement connus étaient recensés et leur plan d'organisation précisé, le plus souvent à l'aide des techniques histologiques qui se sont rapidement imposées comme un méthode indispensable à toute étude anatomique précise.

A la suite d'une longue série de publications échelonnées de 1882 à 1913, von Graff réalisant la synthèse des travaux antérieurs, répartit les Turbellariés en quatre Sous-Classes, caractérisées par l'anatomie générale de l'appareil digestif et la structure du pharynx : Acoeles, Polyclades, Triclades et Rhabdocoelides subdivisées en deux Ordres : Rhabdocoeles et Alloeocoeles.

Cependant, à cette époque Rhabdocoeles et Alloeocoeles apparaissaient déjà très hétérogènes, en particulier sur le plan de l'organisation du système génital, nécessitant la création de subdivisions systémati-

ques fondées sur ce caractère. D'autre part les travaux embryologiques qui datent pour la plupart de cette époque, avaient mis en évidence des différences considérables dans le développement des Polyclades ou des Acoeles, et celui des espèces dont la capsule ovigère renferme une masse de cellules vitellines en plus de l'oeuf proprement dit (ponte ectolécithe) telles que les Triclades. La distinction dont Hallez avait déjà souligné l'importance, s'accompagne non seulement de modalités de développement bien particulières à chacun des deux groupes, mais peut être mise également en corrélation avec la structure anatomique de l'appareil génital femelle, puisque seules les espèces de la seconde catégorie sont pourvues d'un vitellogène différencié. Peu à peu s'impose une révision d'ensemble de la systématique des Turbellariés en tenant compte de ces caractères plutôt que de ceux retenus jusqu'alors, conduisant ainsi à la pulvérisation des Rhabdocoelides au sens de von Graff.

Cette classification due essentiellement à Meixner (1938) distingue les six Ordres suivants : Acoeles, Caténulides, Macrostomides, Polyclades, Alloeocoeles (contenant les Triclades) et Neorhabdocoeles.

Par la suite, Karling (1940) propose le rassemblement des Acoeles, Némertodermatides, Caténulides et Macrostomides dans l'Ordre des Archoophora qu'il met en parallèle avec l'Ordre des Polyclades dont la ponte est également endolécithe. Westblad (1948) regroupe tous les Turbellariés précédents dans l'Ordre unique des Archoophores qu'il oppose à l'Ordre des Néoophores constitué par l'ensemble des Turbellariés à ponte ectolécithe.

Hyman s'oppose nettement aux remaniements précédents qu'elle estime injustifiés (1959, p.734) et conserve dans son Traité (1951), la systématique établie par von Graff. De son côté, Ax (1961, 1963) refuse toute valeur taxonomique aux termes d'Archoophores et de Néoophores mais considère qu'ils représentent deux catégories de Turbellariés correspondant à deux niveaux d'organisation différents caractérisés essentiellement par l'anatomie de l'appareil génital femelle, la structure de la ponte et les modalités du développement embryonnaire.

Enfin, Beauchamp (1961) adopte dans le Traité de Zoologie les grandes lignes de la classification de Karling dont il reprend en particulier l'Ordre des Archoophores mais il supprime l'Ordre artificiel des Alloeocoeles qu'il redistribue dans différents Ordres existants.

Etant donné l'importance reconnue par tous les spécialistes, de la distinction entre les formes à pontes endolécithe et ectolécithe, il est intéressant de désigner ainsi que l'a fait Ax, les premières sous le nom d'Archoophores et les secondes sous celui de Néoophores. Malheureusement, le terme d'Archoophore est mal choisi en raison de l'équivoque qu'il introduit puisqu'il a été utilisé dans des acceptations très différentes par plusieurs auteurs : pour Reisinger (1935) ce terme désigne le Sous-Ordre des Proplicastomata (Karling , 1940) = Proporoplaniens (de Beauchamp, 1961), pour Karling et de Beauchamp, l'Ordre des Archoophores rassemble les Sous-Ordres des Acoeles, Nemertodematides, Caténulides et Macrostomides, tandis que pour Westblad (1948) et Ax (1961) c'est une catégorie de Turbellariés recouvrant les Ordres ou Sous-Ordres des Acoeles, Macrostomides, Nemertodermatides, Proplicastomata et Polyclades.

Aussi pour éviter toute confusion, j'emploierai démormais le terme de Turbellariés Endolécithophores pour regrouper les Ordres : Acoeles, Némertodermatides, Caténulides, Macrostomides et Polyclades, auxquels j'opposerai les Ectolécithophores (=Néoophores). Les Endolécithophores ainsi définis correspondent donc aux Archoophores au sens d'Ax (1961, 1963) mais non de Reisinger (1935), Karling (1940, 1967) et de Beauchamp (1961). Comme Ax, je considère les Endolécithophores et les Ectolécithophores comme deux catégories dénuées de valeur dans la hiérarchie systématique, chacune d'elles regroupant des espèces dont les organes génitaux femelles atteignent une complexité structurale et fonctionnelle comparable.

Les premiers Turbellariés Calyptorhynques étudiés de façon suffisamment précise pour pouvoir être reconnus, furent tout d'abord le *Polycystis crocea*, signalé par O. Fabricius en 1821 sous le nom de *Planaria crocea*, et *Gyratrix hermaphroditus* étudié par Ehrenberg en 1831. Quelques autres espèces furent découvertes ultérieurement si bien que von Graff en citait 20 en 1913.

En étudiant les Turbellariés mésopsammiques des côtes allemandes, Meixner a révélé dans plusieurs publications successives (1928, 1929, 1938) l'étonnante diversité des représentants de ce groupe dans les sables marins littoraux. D'autres chercheurs poursuivant ce travail sur les côtes

scandinaves (Karling), allemandes (Ax, Schilke), galloises (Boaden), bretonnes (L'Hardy) et marseillaises (Brunet) ont considérablement augmenté le nombre des espèces européennes qui approche maintenant de 250.

Par la structure de leurs organes reproducteurs à germigènes et glandes vitellines séparés, les Calyptorhynques se sont trouvés classés par von Graff dans l'Ordre des Rhabdocoelides dont ils ne représentaient alors que deux familles avant d'être isolés dans un Sous-Ordre particulier.

La présence d'une trompe est un des caractères anatomiques les plus remarquables des Calyptorhynques, les rapprochant des Typhloplanoïdes Trigonostomidae qui possèdent comme l'avait déjà noté von Graff, une poche plus ou moins profonde située dans la partie antérieure du corps. Mais l'anatomie de la trompe des Calyptorhynques est bien plus complexe que celle des Trigonostomidae qui correspond en fait à une simple invagination de l'épithélium tégumentaire et de la musculature correspondante; chez les premiers il s'agit d'un véritable organe, possédant un massif de fibres musculaires, plusieurs catégories de cellules glandulaires, un épithélium différencié, et dont la mobilité est assurée par un certain nombre de muscles propres qui s'étendent souvent fort loin vers l'arrière du corps. Par la structure de leur trompe, il est facile de distinguer les Eucalyptorhynques à trompe conique constituée d'un bulbe musculaire basal et toujours terminée par un cône terminal, des Schizorhynques où la trompe se réduit à deux bourrelets musculaires longitudinaux. Cependant, chez certains Eucalyptorhynques le bulbe musculaire basal prend parfois la forme d'un double bourrelet musculaire encadrant ventralement et dorsalement le cône terminal plus ou moins réduit dans ce cas (Placorhynchidae et Gnathorhynchiae). L'épithélium qui recouvre les bourrelets musculaires sécrète des "crochets cuticulaires" chez les Gnathorhynchidae (Eucalyptorhynques), les Schizorhynchidae du genre Carcharodorynchus, les Karkinorhynchidae et les Diascorhynchidae (Schizorhynques).

MATERIEL

Les Turbellariés utilisés au cours de ce travail proviennent presque tous des environs immédiats de la Station Biologique de Roscoff où ils ont été récoltés par dragage ou directement sur la grève à marée basse.

Les recherches poursuivies depuis quelques années sur les Turbellariés Calyptorhynques du Nord de la Bretagne ont permis d'y recenser jusqu'à présent près de 80 espèces. Une telle richesse faunistique résulte incontestablement de la diversité remarquable des biotopes littoraux ainsi que de la variété des facteurs hydrodynamiques de cette région. Cependant, l'instabilité des conditions écologiques due essentiellement au régime des marées et à la fréquence des tempêtes bouleverse sans cesse ces différents biotopes entraînant la destruction partielle ou totale des populations qui les habitent. Les Calyptorhynques inféodés strictement pour la plupart à un biotope déterminé, sont particulièrement sensibles à toute modification de leur habitat et leurs populations présentent de ce fait des fluctuations considérables qui rendent aléatoire la récolte d'une espèce donnée. Pour cette raison, il convient de faire un choix très sévère parmi les espèces à étudier, en tenant compte non seulement de leur abondance mais également des facilités de récolte. Ces difficultés concernant la récolte du matériel ne sont d'ailleurs pas particulières aux Calyptorhynques puisque Hallez (1879) et Papi (1951) ont déjà eu l'occasion de souligner qu'elles constituent un obstacle souvent insurmontable à l'étude biologique des Turbellariés.

Sur le plan écologique, les Calyptorhynques peuplent de façon très différente divers types de biotopes.

1) Dans le milieu algal (ou phytal, Ax 1951), la diversité spécifique est très réduite mais les populations sont particulièrement riches en individus et constituent de ce fait un matériel favorable.

2) Dans le milieu psammique, les espèces présentes sont bien plus variées mais en contre partie elles ne forment habituellement que des populations quantitativement très pauvres. Seules quelques espèces assez eurytopes

pour peupler les zones supérieures de l'estran, les estuaires et les étangs à salinité variable, fournissent un matériel favorable en raison de son abondance et des facilités de récolte.

En revanche, les sables infralittoraux recèlent une faune plus variée qui dans certains sédiments peut dépasser une vingtaine ou même une cinquantaine d'espèce (Schilke, 1970) mais sans jamais constituer des populations monospécifiques denses.

De plus, il existe quelques espèces écologiquement indifférentes, présentes aussi bien parmi les algues que dans le sable, comme *Acrorhynchides robustus* et *Gyratrix hermaphroditus*.

Récolte.

La taille très réduite (4 à 5 mm au maximum, mais le plus souvent 1 à 2 mm seulement) des Turbellariés Calyptorhynques nécessite obligatoirement une recherche sous la loupe binoculaire qui ne peut évidemment se faire qu'au laboratoire. Il convient donc d'étudier préalablement les préférences écologiques des espèces recherchées et de repérer si possible des stations où elles sont à la fois numériquement abondantes et régulièrement présentes.

Puisque les espèces ne peuvent être reconnues sur le terrain, la récolte se fait nécessairement au hasard, par prélèvement d'un volume déterminé d'algues ou de sédiment. Il y a intérêt, même dans les stations bien connues, à réaliser plusieurs prélèvements car la densité des peuplements varie souvent d'une façon considérable et imprévisible.

La nécessité de ne constituer des élevages qu'à partir d'animaux en parfait état physiologique interdit la plupart des méthodes de triage habituellement utilisées : anesthésie, asphyxie ou lavage du sédiment (Swedmark, 1955 ; Delamare Deboutteville, 1960 ; Hulings et Gray, 1971), cette dernière méthode cependant peut donner des résultats si elle est pratiquée avec précaution et je l'ai employée pour la récolte de *Baltoplana magna*. Pour les mêmes raisons, il est également indispensable d'effectuer le triage aussi rapidement que possible après le prélèvement.

Elevage.

La réalisation d'un élevage de Turbellariés Calyptorhynques nécessite un certain nombre de précautions particulières. Les élevages ont été maintenus dans des cristallisoirs à bords rodés recouverts d'une plaque de verre. Ils doivent être conservés à l'obscurité ou tout au moins à l'abri d'une lumière trop vive et à une température aussi stable que possible (Lutz, Welch, Galtsoff et Needham, 1959).

Si l'alimentation des espèces végétariennes est relativement aisée, il n'en va pas de même pour les espèces carnivores telles que les Calyptorhynques, qui exigent généralement des proies vivantes et de très petite taille. La plupart de mes élevages réalisés à Roscoff ont été nourris avec *Paronychocamptus nanus* (Copépode Harpacticoïde Laophontidae) qui en raison de sa taille assez réduite peut être avalé par n'importe quel Calyptorhynque, et qui de plus est facilement récolté à proximité immédiate de la Station biologique (Jakubisiak, 1933 ; Monnard, 1935) ; cette espèce constitue par ailleurs la proie favorite d'*Acrorhynchides robustus* et de *Baltoplana magna* dans la nature. L'alimentation de *Polycystis nägelii* peut être assurée par les Copépodes particulièrement abondants qui peuplent les algues littorales ; il est possible aussi de nourrir cette espèce avec de jeunes larves (nauplius ou premiers stades métanaupliens) d'*Artemia salina*. A la température de 15 - 18° C., il est suffisant d'introduire des proies en excès deux fois par semaine dans les élevages, pour maintenir ceux-ci en bonne condition. Quelques heures après chaque nourrissage, il est important de transférer les Turbellariés dans des récipients propres, car ils sont alors très sensibles aux conditions rapidement asphyxiques que crée l'introduction massive des Crustacés. L'introduction de quelques Copépodes dans un cristallisoir contenant des *Polycystis* affamés par un ou deux jours de jeûne provoque immédiatement une grande agitation chez les Turbellariés ; ces derniers parcourent rapidement tout le cristallisoir, de temps à autre ils s'arrêtent brusquement, et après avoir aplati leur partie postérieure sur le substrat, ils explorent de la tête l'espace environnant. Ils semblent attirés par les stimuli mécaniques que provoquent les mouvements des appendices de leurs proies. Ils sont capables de déceler et de localiser à distance les Copépodes qui s'agitent, alors qu'ils passent indifférents à côté ou même par dessus ceux qui demeurent parfaitement immobiles. Arrivés

à proximité immédiate de sa proie, le Polycystis ralentit son mouvement puis s'arrête avant de projeter sa trompe qui se referme comme une pince ainsi que l'ont observé Evdonin et Minicher (1969) chez Macrorhynchus crocea. Certains Copépodes très vigoureux réussissent parfois à s'échapper, surtout lorsque la trompe s'est accrochée à un appendice ou aux soies furcales. Aussitôt après la capture, le Turbellarié rétracte toute la partie antérieure de son corps tandis que ses flancs s'écartent pour former une sorte d'entonnoir péribuccal au fond duquel la proie se trouve entraînée et amenée ainsi au niveau de la bouche. Les proies sont avalées indifféremment par la tête ou par la queue, et en entier à moins qu'elles ne soient trop grosses. Au moment d'être ingérées, les proies qui semblent partiellement paralysées sont immobiles à l'exception de leurs appendices encore agitées de mouvements désordonnés. Polycystis nägelii est capable de capturer des proies bien plus volumineuses que lui; de jeunes Amphipodes en train de muer sont souvent attaqués avec succès ; les appendices sont arrachés article par article puis le Turbellarié pénètre à l'intérieur du corps de sa victime par les bases d'insertion des pattes. Entre les repas, Polycystis nägelii se déplace peu. Il se constitue souvent une sorte de "nid" muqueux fixé sur un rameau d'algue et dont il ne sort pas volontiers. Chez Gyratrix hermaphroditus comme Hallez l'a décrit, la proie capturée de la manière précédente est paralysée par une injection de la sécrétion vénimeuse des glandes prostatiques, avant d'être ingérée.

Baltoplana magna en revanche se fixe solidement au substrat par sa couronne adhésive postérieure, la trompe et le pharynx protractés à l'extérieur du corps prêts à se refermer sur toute proie passant à proximité, comme l'a figuré Karling (1961, fig. 69B, p. 281).

Le transvasement comme la récolte elle-même se font à l'aide de pipettes en plastique à l'intérieur desquelles les animaux n'adhèrent pas. Cette précaution est absolument indispensable dans le cas de Baltoplana magna pourvu d'une ceinture adhésive glandulaire subterminale qui lui permet de se fixer très efficacement au substrat.

Les capsules ovigères fixées sur le fond et les parois des récipients d'élevage sont détachées et prélevées chaque jour à l'aide d'une pince

fine. Pour certaines espèces, l'addition d'un peu de sédiment dans chaque récipient favorise la fixation des capsules ovigères qui sont déposées préférentiellement sur les grains de sable plutôt que sur les parois des cristallisoirs. Les pontes sont conservées vivantes pendant toute la durée du développement si nécessaire, dans de petits godets à fond rond où l'eau est renouvelée une ou deux fois par semaine.

PREMIERE PARTIE

BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DES CALYPTORHYNQUES.

Les Turbellariés Calyptorhynques semblent tout à fait incapables de se reproduire par voie asexuée comme le font certains Triclades, les Macrostomides du genre *Microstomum* et les Caténulides du genre *Stenostomum* (Voigt, 1894 ; Child, 1903). Les expériences de Ruhl (1927) sur *Gyratrix hermaphroditus* ont bien montré que cette espèce est dépourvue de toute possibilité de régénération même limitée. Pour ma part, j'ai pu constater dans mes nombreux élevages que des mutilations même peu importantes ne sont pas toujours cicatrisées et entraînent fréquemment la mort de l'animal.

L'étude de la reproduction sexuée des Calyptorhynques sera centrée sur trois thèmes principaux qui feront chacun l'objet d'un chapitre : 1) la structure des organes reproducteurs et la gamétogenèse, 2) les modalités de l'insémination et la fécondation et enfin 3) la formation et la structure de la ponte.

Au cours du présent travail, je me suis efforcé d'examiner le plus grand nombre possible d'espèces afin de dégager les traits généraux de la biologie des Calyptorhynques. Mais comme on le verra dans les pages qui suivent, ces animaux à quelques exceptions près ont un comportement très homogène à cet égard. J'ai donc limité l'exposé à l'étude d'un ou deux cas précis et caractéristiques sans chercher à multiplier inutilement le nombre des exemples.

La fixation, l'inclusion et la confection des coupes de Turbellariés adultes se font par les techniques classiques : fixation au Bouin ou au Helly, déshydratation terminée par trois bains d'alcool butylique selon le procédé de Larbaud (1921). Lorsqu'une orientation précise du plan de coupe est nécessaire, il est indispensable de recourir à une inclusion

mixte à la gélose-paraffine selon la méthode de Chatton (cf. Langeron, 1949, p. 479 - 480).

L'inclusion a été réalisée dans une cytoparaffine dure (température de fusion 57 - 59°C.) et les coupes débitées à des épaisseurs de 3 ou 5µ .

Après de multiples essais, les colorations retenues sont les suivantes :

- coloration nucléaire par l'hématoxyline de Heidenhain (cf. Langeron, p. 566) ou par l'hématoxyline de Groat (cf. Martoja et Martoja, 1967, p. 311) ;

- coloration cytoplasmique par la triple coloration de Prenant (cf. Martoja et Martoja, p. 73) en remplaçant l'éosine par une solution d'érythrosine à 1% ;

- trichrome en un temps de Gabe et Martoja, (cf. Martoja et Martoja, p. 81) ;

- coloration par l'Azan, selon la méthode rapide de Schleicher (cf. Langeron, p. 1154) ;

- coloration par le Feulgen-vert lumière (cf. Langeron, p. 1227).

Les techniques histochimiques et leur critique éventu e seront exposées ultérieurement comme introduction aux paragraphes consacrés à cette partie du travail.

CHAPITRE PREMIER

STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DES ORGANES REPRODUCTEURS.

L'une des particularités anatomiques remarquables du phylum des Plathelminthes réside dans leur hermaphrodisme. A la différence de la plupart des autres Métazoaires hermaphrodites dont l'unique glande génitale ou ovotestis fournit à la fois ou successivement des ovocytes et des spermatozoïdes, les Plathelminthes possèdent non seulement des testicules et des germigènes distincts mais en fait deux appareils génitaux mâle et femelle complets et indépendants.

Cet hermaphrodisme est fondamental chez les Plathelminthes et bien peu d'espèces y font exception aussi bien chez les Turbellariés libres comme l'Acoele *Haploposthia rubropunctata*, les Triclades Maricoles *Sabussowia dioica* et *Cercyra teissieri* (cf. Ax, 1961, p.31), le Typhloplanoïde Promesostomidae *Listea simplex* (Ax et Heller, 1970) ou parasites comme le Dalyellioïde Fecampidae *Kromborgia amphipodicola* (Christensen et Kanneworff, 1964) que chez les Digènes du genre *Schistosoma*. Encore conviendrait-il de remarquer que les Triclades cités plus haut passent au cours de leur vie par une phase mâle avant que les germigènes se développent à leur tour. Une telle protandrie se retrouve chez de nombreuses espèces appartenant à tous les Ordres de Turbellariés mais sans s'accompagner de la disparition des testicules lors de la phase femelle ultérieure.

En dépit de leur double appareil génital et peut-être justement en raison de leur protandrie, l'autofécondation parait exceptionnelle chez les Turbellariés et j'ai vérifié sur de nombreuses espèces de Calyptorhynques que les individus isolés mouraient toujours sans descendance. Chez eux il est vrai comme on le verra plus loin, le sperme est émis lors de l'accouplement dans la bourse copulatrice du conjoint et l'appareil copulateur par son anatomie et sa position exclut toute possibilité d'auto-insémination dans la très grande majorité des espèces.

Pour la clarté de l'exposé, j'étudierai successivement la structure des organes génitaux et les modalités de leur fonctionnement.

I. - APPAREIL GENITAL MALE

A. - ANATOMIE TOPOGRAPHIQUE DU TRACTUS GENITAL MALE (Fig.1).

1 - Testicule.

Les Turbellariés Calyptorhynques possèdent très généralement deux testicules indépendants qui ont en principe une forme à peu près cylindrique ou elliptique allongée, et s'étendent habituellement le long des flancs de l'animal.

Chez Clyporhynchus monolentis et Baltoplana magna, une soudure secondaire des parties antérieures de chaque testicule donne l'impression que ces deux espèces sont pourvues d'un testicule impair et symétrique dont les produits sont évacués par deux canaux déférents latéraux.

Parfois les glandes génitales mâles se fragmentent en un nombre plus ou moins important d'ampoules testiculaires, alignées en deux rangées latérales dans le genre Schizorhynchoïdes ainsi que chez Carcharodorhynchus polyorchis et C. flavidus, ou regroupées en une unique bande médioventrale chez certains Schizorhynchidae : Carcharodorhynchus ambronensis, et Schizorhynchoïdes aculeatus, les représentants des genres Schizochilus, Pseudoschizorhynchus, Amphirhynchus, et chez l'ensemble des Diascorhynchidae.

Dans quelques genres, les testicules se réduisent à un petit massif ovoïde ou sphérique. Ils sont alors habituellement refoulés à l'avant du corps entre le pharynx et les ganglions cérébroïdes comme chez les Schizorhynchidae des genres Proschizorhynchus, Neoschizorhynchus ou Thylacorhynchus ; cependant chez Cicerina tetradactyla et Opisthocystis goettei, les testicules bien que peu développés restent en arrière du pharynx.

Enfin, la disparition complète d'un testicule s'observe aussi bien chez les Eucalyptorhynques (Gyratrix hermaphroditus et tous les Gnathorhynchidae) que chez les Schizorhynques des genres Rhinepera et Cheliplanilla. La structure de l'appareil mâle de ces espèces diffère donc par sa disymétrie de celle de Baltoplana ou de Clyporhynchus.

2 - Canal déférent.

Normalement les canaux déférents sont pairs et latéraux, chacun d'entre eux évacuant les spermatozoïdes formés par le testicule correspondant. Dans les quelques cas où l'une des deux glandes génitales disparait, le canal déférent qui lui est associé subit lui aussi une régression complète sauf dans le genre *Cheliplanilla* où persiste une partie du canal déférent gauche sous la forme d'un long diverticule.

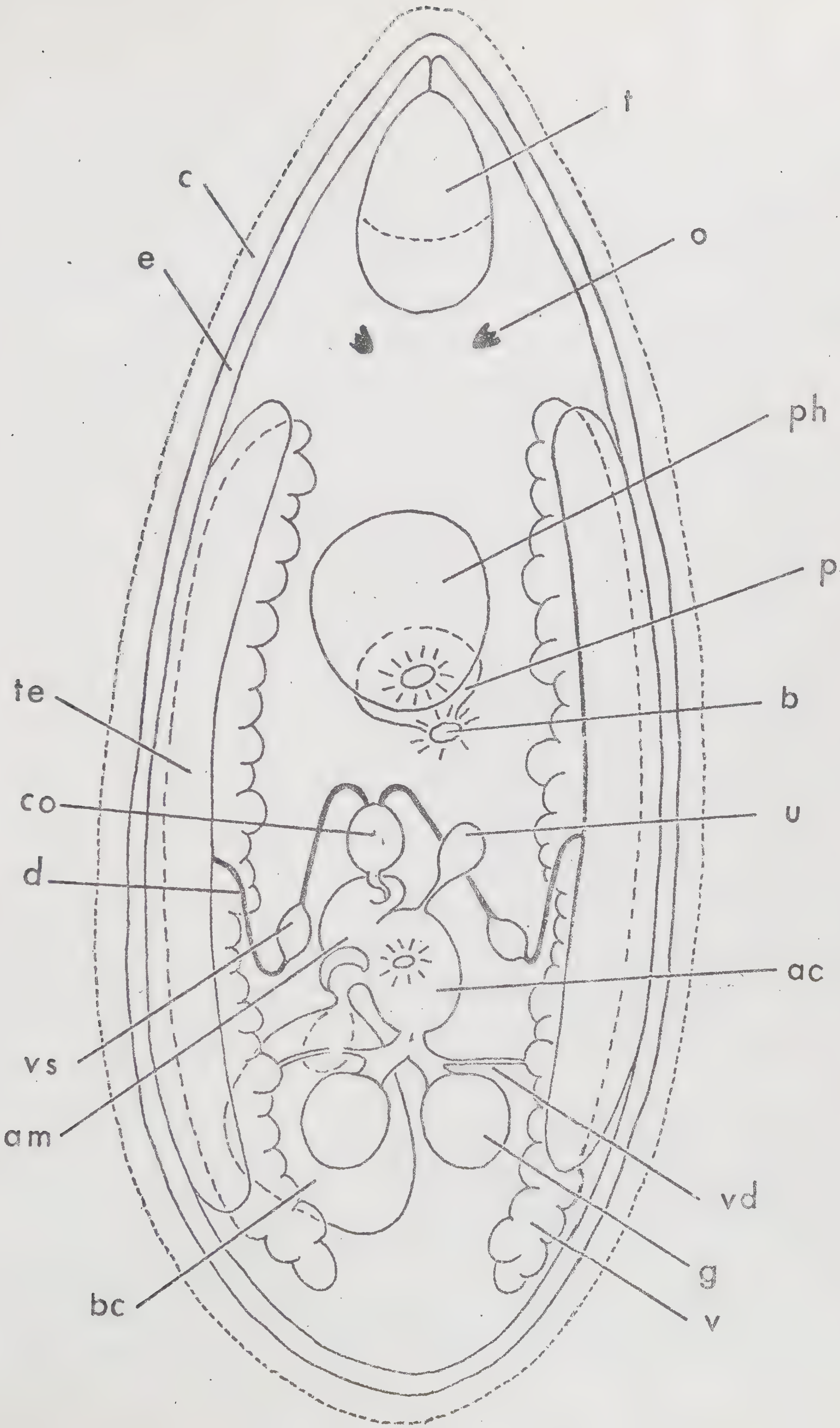
Chez les espèces dont les testicules sont relativement allongés c'est à dire chez la très grande majorité des Polycystidae, les canaux déférents s'insèrent sur la face interne de la région moyenne des testicules. Chez les espèces à testicules arrondis ou divisés en ampoules testiculaires, chez les Gnathorhynchidae et chez les Schizorhynques, l'insertion du canal déférent se réalise au niveau du pôle postérieur du testicule ou de chaque ampoule testiculaire.

Sur sa plus grande longueur, le canal déférent a une lumière très étroite car sa paroi mince et souple est habituellement comprimée par les organes environnants. Néanmoins, la partie terminale de chaque canal se renfle en une vésicule séminale ou s'accumulent les spermatozoïdes en réserve dont la masse distend souvent d'une façon considérable les parois du canal.

3 - Organe copulateur.

Immédiatement en arrière des vésicules séminales, les deux canaux déférents confluent en formant un canal unique ou canal éjaculateur dont la partie proximale s'entoure d'une musculature très développée pour constituer l'organe copulateur. La plupart du temps, des cellules glandulaires sont incluses au moins en partie à l'intérieur de la tunique musculaire de cet organe. Chez certaines espèces cependant, les cellules glandulaires se rassemblent en formant une vésicule prostatique soit totalement indépendante, soit partiellement enfermée à l'intérieur de la tunique musculaire de l'organe copulateur.

Assez rarement, le canal éjaculateur se poursuit au-delà de l'organe copulateur en formant un pénis à lumière interne inerme ou tapissé d'épines sclérifiées (cirre copulateur). Mais le plus souvent, le canal éjaculateur s'interrompt à l'extrémité distale de l'organe copulateur qui se prolonge néanmoins par une ou plusieurs pièces copulatrices cuticulaires


t
c
o
e
ph
p
te
b
co
u
d
ac
vs
am
vd
g
bc
v

sclérifiées constituant soit un stylet si elles ont chacune la structure d'une gouttière ouverte d'un côté, soit une canule s'il s'agit d'une pièce creusée sur une partie de sa longueur d'un canalicule interne. Dans certains genres, le nombre de ces pièces cuticulaires se multiplie tandis que leurs fonctions se spécialisent, certaines gardant le rôle fondamental de pièces copulatrices, d'autres permettant l'évacuation des produits sécrétés par les cellules glandulaires de la vésicule prostatique, d'autres enfin assurant la protection, la cohésion et éventuellement le guidage des mouvements des deux séries de pièces précédentes.

Le pénis ou les pièces copulatrices cuticulaires débouchent à l'intérieur de la cavité de l'atrium génital commun ou d'un diverticule de ce dernier (atrium génital mâle). L'atrium commun s'ouvre à l'extérieur par un orifice génital commun ventral ou caudal. Grâce à la présence de fibres musculaires rayonnantes, cet orifice peut s'élargir de façon considérable si bien qu'au moment de l'accouplement, lorsque la musculature tégumentaire se contracte en provoquant une compression des organes situés au niveau de l'atrium, les parois atriales entrainant avec elles l'organe copulateur feront largement saillie à l'extérieur. Chez les espèces dont le pore génital est ventral, une paire de muscles rétracteurs insérés ventralement au pôle distal de l'organe copulateur permet à ce dernier de basculer vers l'avant, ce qui dégage largement le pénis ou les pièces copulatrices dont les mouvements sont assurés par un certain nombre de fibres dépendant de la tunique musculaire de l'organe copulateur. Chez les espèces où l'orifice génital commun est terminal à l'extrémité postérieure du corps (Gyratrix hermaphroditus par exemple), l'extrusion de l'organe copulateur est assurée par un ensemble de fibres musculaires rayonnantes.

B. - ANATOMIE MICROSCOPIQUE DU TESTICULE.

Sur coupes, les testicules apparaissent entièrement délimités par un épithélium unistratifié très étroit qui se prolonge en constituant la paroi des canaux déférents et des vésicules séminales. Cette paroi épithéliale est formée par quelques cellules dont les noyaux sont localisés au niveau des canaux déférents.

Comme chez la plupart des autres Turbellariés déjà étudiés (Luther, 1904 ; Weygant, 1907 ; Cognetti de Martiis, 1922) les cellules germinales

s'isolent au début de leur différenciation et se multiplient pour former des cystes indépendants constitués de spermatogonies dont le nombre n'excède pas une dizaine. Toutes les gonies appartenant au même cyste sont exactement au même stade et évoluent de façon synchrone.

Chez les espèces à testicules peu volumineux, les initiales germinales ont habituellement une position antérieure et les étapes progressives de la spermatogenèse se succèdent d'avant en arrière jusque dans la partie postérieure ou s'insère le canal déférent. Lorsque le testicule est plus important, les cellules germinales primordiales forment une assise plus ou moins nette et l'évolution des cystes se réalise entre la zone corticale et la zone médulaire du testicule. Chez Polycystis nägelii cependant, la disposition fondamantale des cellules germinales en amas testiculaires se retrouve, mais elle est masquée à cause de la dissociation fréquente des cystes ; le testicule parait alors constitué par la juxtaposition désordonnée de cellules germinales parvenues à des stades d'évolution très variés. Les cellules germinales primordiales se distribuent irrégulièrement à la périphérie du testicule où elles sont plus ou moins aplaties le long de la membrane limitant cet organe.

Le nombre des cystes est en relation avec la taille du testicule qui les contient. Les Polycystidae ont habituellement des testicules qui renferment souvent plus de 100 ou 150 cystes évoluant simultanément tandis que chez Proschizorhynchus les testicules globuleux ne comptent pas plus d'une vingtaine de cystes. Chez Carcharodorhynchus dont les testicules sont fragmentés en un nombre relativement élevé d'ampoules testiculaires indépendantes, il n'y a que 4 ou 5 cystes dans chaque ampoule.

C. - SPERMATOGENESE.

1 - Observations antérieures.

Bien que l'histologie des Calyptorhynques ait été étudiée à diverses reprises notamment par von Graff (1882) et par Pereyaslawzewa (1893) on manque de précisions sur la spermatogenèse et les travaux consacrés spécialement à ce sujet sont si peu nombreux (Koltzoff 1909, Hendelberg 1970) que cet aspect de leur biologie reste étonnamment mal connu par comparaison avec la plupart des autres groupes d'Ectolécithophores et plus parti-

culièrement les Triclades (Böhmig 1908a, 1912-1917 ; Hammerschmidt, 1908 ; Rappeport, 1914, 1915 ; Schleip, 1907), les Protriclades (Reisinger, 1940), les Plagiostomides (Böhmig, 1908 b ; Jensen , 1883 ; Weygant, 1907), les Typhloplanoïdes (Cognetti de Martiis, 1922, 1923 ; Papi, 1953).

Le travail de Koltzoff concerne une espèce indéterminée de Macrorhynchus (Polycystidae) chez laquelle l'auteur signale la présence de spermatides biflagellées évoluant en spermatozoïdes à flagelles incorporés sur le bord d'une membrane ondulante unique. Tout récemment, Hendelberg, (1970) a repris cette étude sur Acrorhynchides robustus (Polycystidae), Prognatorhynchus typhlus (Gnathorhynchidae) et Proschizorhynchus gullmarensis (Schizorhynchidae). Sur ces trois espèces, l'auteur confirme l'observation de Koltzoff et retrouve des spermatozoïdes biflagellés. Mais au cours de la spermatogenèse, il constate que les deux flagelles restent accolés tout le long du corps des spermatozoïdes sans constituer cependant une membrane ondulante nettement différenciée.

Des travaux sur l'ultrastructure de la spermatide et du spermatozoïde ont été poursuivis ces dernières années chez différents Acoeles (Henley, 1968 et Hendelberg, 1969 a et b), quelques Polyclades (Hendelberg, 1965), certains Triclades (Klima, 1961 ; Silveira et Porter, 1964 ; Skaer, 1961) et un Plagiostomum (Christensen, 1961). On peut regretter avec Hendelberg (1969 a, p.33) qu'aucune étude de ce genre n'ait encore été entreprise chez les Calyptorhynques.

2 - Observations personnelles.

J'ai repris l'étude de la spermatogenèse chez quelques Calyptorhynques en combinant des techniques aussi variées que possible : coupes histologiques, préparations supravitales avec observation en contraste de phase ou en contraste interférentiel accompagnée éventuellement par des colorations vitales (Franzen, 1956) et des écrasements (squashes) soit dans l'orcéine lacto-acétique ou lacto-propionique (Sharma et Sharma, 1965), soit dans le carmin acétique après un mordançage à l'alun de fer selon la méthode préconisée par Austin (1952).

a - Polycystis nägelii (Fig. 2 et 3).

α) Multiplication.

Chez cette espèce, les cellules germinales primordiales sont distribuées irrégulièrement à la périphérie des testicules. Elles sont

plus ou moins régulièrement aplaties et de forme polygonales ; elles atteignent environ 10 µ de long sur 8 ou 9 µ de large et se distinguent aisément des autres catégories cellulaires du testicule par leur cytoplasme nettement basophile et par leur noyau ovalaire ou presque sphériques mesurant 8 µ de diamètre moyen, à contenu dense finement granuleux renfermant un ou exceptionnellement deux nucléoles. Les divisions mitotiques successives des cellules germinales engendrent de petits massifs cellulaires qui restent à la périphérie du testicule excepté quelques uns d'entre eux qui se trouvent repoussés vers l'intérieur de cet organe à cause du développement simultané des cellules germinales voisines. Au cours de ces divisions mitotiques, il a été possible de préciser le caryotype de cette espèce qui compte 2 n = 12 chromosomes. Les cystes testiculaires sont ainsi constitués par un ensemble de 4 à 10 spermatogonies morphologiquement identiques aux cellules germinales primordiales.

β) Maturation.

La première manifestation de l'évolution des spermatogonies est la disparition du nucléole puis la répartition des granules de chromatine à la périphérie du noyau, en même temps que le cytoplasme perd sa basophilie. Le noyau de forme ovoïde mesure alors 12 à 15 µ de long sur 7 à 8 µ de large ; par la suite il devient sphérique avec un diamètre d'environ 15 µ . Le déroulement de la prophase est extrêmement long et plus de la moitié des cellules du testicule sont à ce stade. La chromatine nucléaire commence par se condenser en filaments très fins, anastomosés en un réseau réticulé. Aux mailles de ce réseau, apparaissent des condensations chromatiques plus importantes autour desquelles se constituent progressivement les filaments chromosomiques. Au leptotène, ils ont l'aspect de filaments très grêles mais néanmoins bien individualisés et comme leur longueur dépasse de beaucoup le diamètre du noyau, ils s'enchevêtrent en se pelotonnant les uns sur les autres. Au zygotène qui marque la fin de l'accroissement, l'appariement des chromosomes homologues est parfaitement visible. En raison de leur longueur, les chromosomes ont tendance à se disposer plus ou moins parallèlement les uns aux autres en formant une sorte de faisceau qui provoque l'allongement du noyau. Ce dernier reprend ainsi une forme ovoïde et mesure alors 15 x 10 µ . Les autres stades de

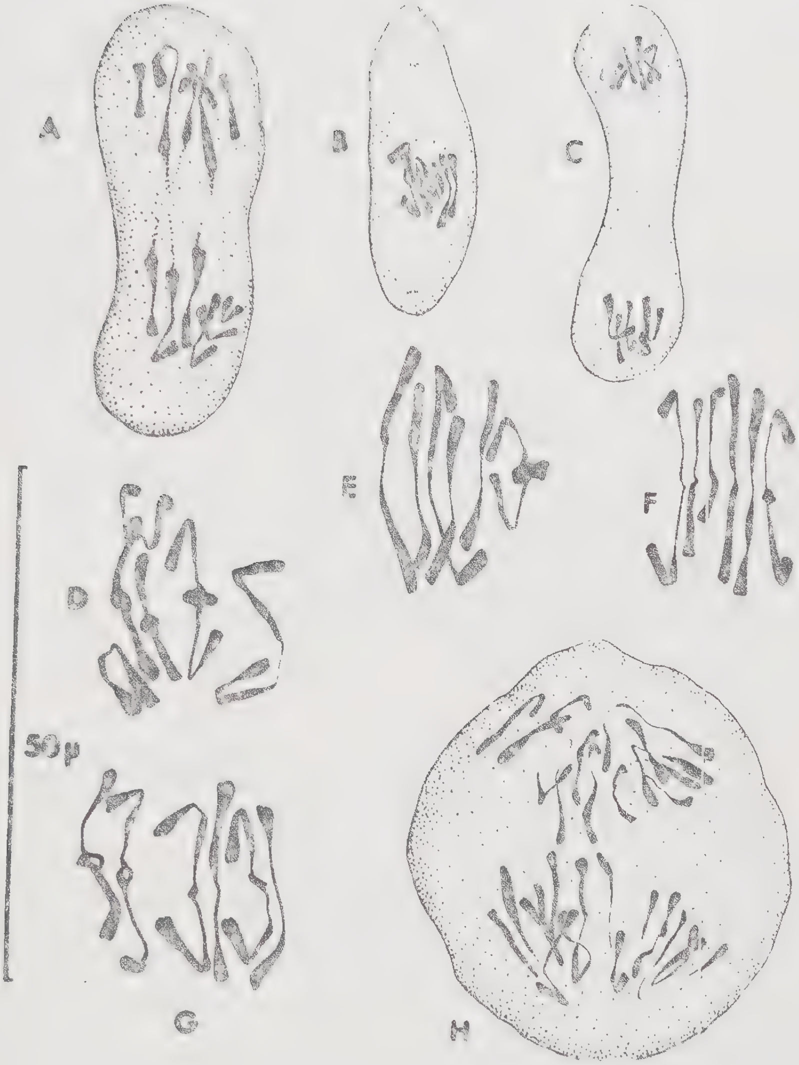


Fig. 2.- Caryologie de
Polycystis nägelii.
A : Anaphase I. - B : métaphase II. - C : anaphase II. - D, E, F et G : métaphases I. - H : méta-anaphase mitotique d'une division spermatogoniale.

la prophase I sort infiniment plus rares. Le raccourcissement chromosomique est très sensible à partir du pachytène, mais les chromosomes occupent encore une place considérable dans le noyau où ils sont difficiles à dénombrer même sur les écrasements, car ils demeurent emmêlés les uns aux autres jusqu'à la diacinèse. A la métaphase, il est possible de dénombrer 6 bivalents dont les bras atteignent 8 à 9 µ , pour une largeur de près de 2 µ . Ils se raccourcissent encore à l'anaphase et à la télophase.

La seconde division de maturation ne suit pas immédiatement la formation des spermatocystes II qui se présentent alors sous l'aspect de cellules ovalaires de 10 x 15 µ , à cytoplasme éosinophile et à noyau intercinétique très dense de 8 à 9 µ de diamètre. Cette division qui aboutit à la formation des spermatides ne s'observe que dans un nombre très restreint de cellules, sans doute à cause de la rapidité de son déroulement qui est dépourvu de tout caractère remarquable. Les six chromosomes métaphasiques sont fortement condensés à ce stade et les plus longs ne dépassent guère 5 à 6 µ de long sur 1 µ de large. Après leur formation, les spermatides restent groupées. Elles sont à peu près sphériques, mesurent environ 10 µ et leur noyau très riche en chromatine occupe une position centrale dans la cellule.

γ) Spermiogenèse.

Sur le vivant, l'écrasement ou la dissociation du contenu testiculaire permettent de constater que les spermatides provenant d'un même massif spermatogonial restent unies entre elles par des ponts cytoplasmiques localisés dans la partie centrale de chaque cyste. Il est également possible de remarquer que le cytoplasme forme en deux endroits voisins, des protubérances coniques qui font saillie à l'extérieur sur une hauteur de 2 µ et qui sont les bases d'insertion de deux flagelles très fins mais cependant bien visibles au contraste de phase et dont la longueur peut dépasser 50 µ .

Par la suite, les spermatides s'aplatissent dans un plan perpendiculaire à celui déterminé par les points d'insertion des deux flagelles, puis leurs noyaux qui deviennent piriformes migrent pour se disposer tout le long de la périphérie du cyste. En même temps, à proximité immédiate du noyau, le cytoplasme de chaque spermatide s'étire progressivement en

Fig. 3.- Spermatogénèse de Polycystis nägelii.
A : Spermatogonie. - B : jeune spermatocyte I. - C et D : accroissement du spermatocyte I. - E et F : stade leptotène. - G : stade zygotène. - H et J : stade diplotène. - K : spermatocyte II. - L : spermatides. - M, N, O, P, Q et R : spermiogenèse. - S : spermatozoïde.

un prolongement filamenteux de plus en plus long. Dès que ce filament atteint une quinzaine ou une vingtaine de microns, il se soude aux flagelles de la spermatide qui jusque là étaient libres et constitue ainsi la queue du spermatozoïde. Lorsque celle-ci atteint une quinzaine de microns, le noyau perd sa forme subsphérique et s'étire en longueur sauf au niveau de son extrémité antérieure plus renflée qui demeure au sein du cytoplasme de la spermatide. Ce n'est que lorsque le noyau a pris une forme cylindrique de 20 à 25 µ de long sur 5 µ de large environ, que se constitue l'acrosome. Les têtes des spermatozoïdes formés restent plongées dans le cytoplasme des spermatides qui leur ont donné naissance, et l'ensemble constitue un cytophore. Avant de se libérer le noyau du spermatozoïde continue encore de s'allonger de façon considérable. Lorsqu'il se détache, il entraine souvent avec lui une gouttelette cytoplasmique qui s'élimine ultérieurement.

Le spermatozoïde achevé de Polycystis nägelii dépasse 120 à 130 µ de longueur. L'acrosome très réfringent de forme conique mesure 5 à 6 µ, et le noyau qui lui fait suite s'allonge sur une cinquantaine de microns. L'observation en contraste de phase permet de repérer le long du noyau, deux carènes longitudinales qui correspondent sans aucun doute aux flagelles de la spermatide accolés à la membrane cytoplasmique du spermatozoïde. La limite est bien nette entre la tête et la partie postérieure progressivement effilée, mais il est en revanche impossible de distinguer une pièce intermédiaire et une région caudale différenciées.

b - Gyratrix hermaphroditus (Fig.4).

α) Multiplication.

L'unique testicule claviforme de Gyratrix est situé dans la partie médiane du corps. Comme chez les autres Calyptorhynques, les gonies en cours de différenciation restent groupées en cystes provenant chacun de la multiplication de l'initiale germinale qui leur a donné naissance. Les cellules germinales primordiales occupent essentiellement le pôle antérieur du testicule et les cystes testiculaires sont progressivement refoulés vers l'extrémité postérieure de la glande génitale au fur et à mesure de leur évolution.

Etant donné l'existence chez <u>Gyratrix hermaphroditus</u>, de plusieurs races chromosomiques réparties dans les milieux écologiques différents (Reuter, 1961), l'étude de la spermatogenèse de cette espèce a été réalisée sur deux populations bien localisées, provenant des environs immédiats de Roscoff :

1) dans le chenal de l'Ile Verte, au lieu dit "sous les hôtels",
2) à la pointe des Jacobins.

J'ai eu l'occasion de vérifier à de multiples reprises et durant plusieurs années consécutives que ces deux populations littorales possèdent des garnitures chromosomiques identiques et que les modalités de la spermatogenèse y sont strictement analogues.

Au cours de la phase de multiplication des initiales germinales, de nombreuses mitoses permettent d'établir le caryotype 2n = 6 dont deux paires de chromosomes métacentriques à grands bras subégaux et une troisième paire à bras inégaux. En fin de prophase ou en métaphase, les grands bras de chacun de ces chromosomes atteignent de 8 ou 9 à 15 µ de longueur tandis que les bras courts ne dépassent pas 4 à 5 µ de long.

β) <u>Maturation</u>.

Après cette phase de multiplication, les spermatogonies formées s'accroissent sensiblement puisque le noyau du spermatocyte de premier ordre mesure environ 20 µ de diamètre.

Les chromosomes se reconstituent à partir des granulations chromatiques dispersées dans la caryolymphe ; ils sont alors extrêmement fins et longs, étroitement pelotonnées les uns sur les autres durant tout le leptotène. Au diplotène, les chromosomes appariés se raccourcissent nettement et il est possible de dénombrer trois bivalents dont les grand bras atteignent 20 à 28 µ chacun. Au pachytène, ils subissent un épaississement et un raccourcissement notables, si bien que les bivalents n'ont guère plus de 20 µ de longueur totale sur 2 à 3 µ d'épaisseur, à la métaphase.

A ce stade, les deux bivalents à grands bras égaux présentent fréquemment une structure en anneau avec un chiasma sur chaque bras, bien plus rarement un chiasma unique sur l'un des bras. En revanche, le nombre de chiasmas du bivalent à bras inégaux varie davantage : le cas le plus courant semble bien celui d'un chiasma unique intéressant le grand bras, mais

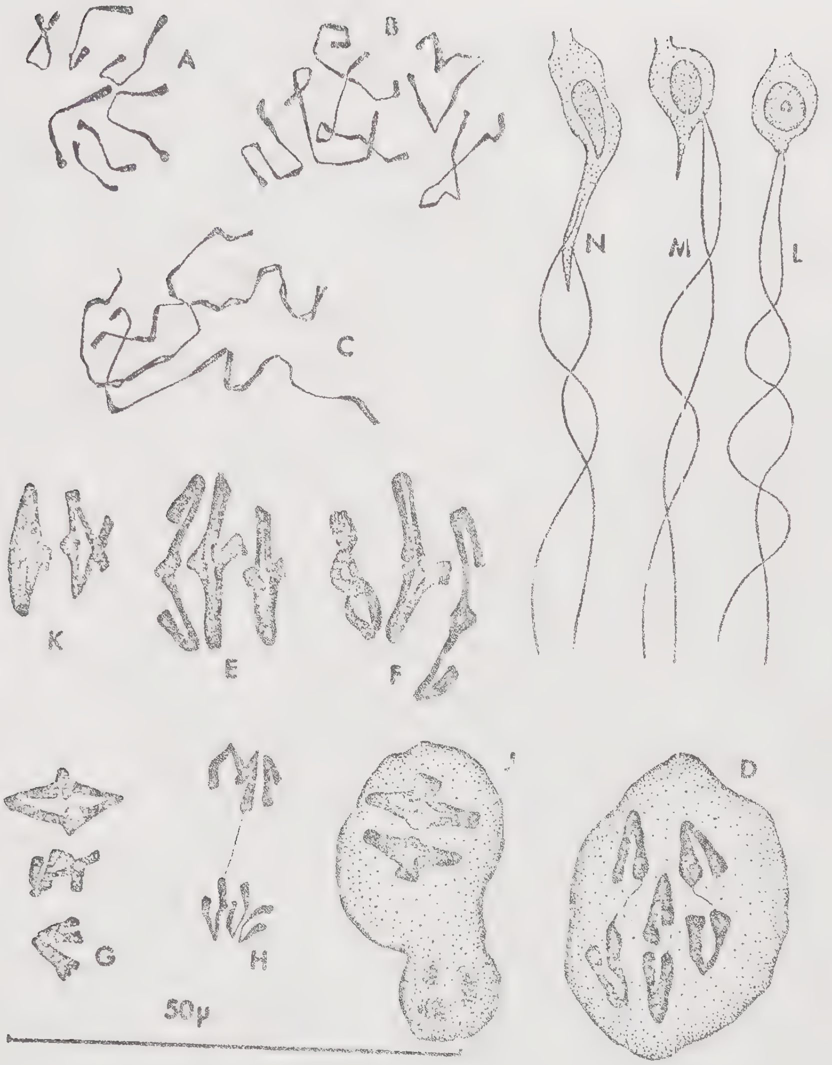


Fig. 4.- Spermatogenèse de Gyratrix hermaphroditus. A et B : métaphases mitotiques dans les divisions spermatogoniales. - C : stade zygotène. - D, E et F : métaphases I à 3 bivalents. - G : métaphase 2. - H : Anaphase 2. - J et K : métaphases I à 2 bivalents. - L, M et N : spermiogenèse.

on peut aussi en compter deux (un sur le grand bras et un autre sur le bras court si bien que le bivalent est annulaire) et même parfois trois.

Il convient de souligner cependant, que certains individus présentent une ou deux plaques métaphasiques contenant seulement deux bivalents annulaires. Dans tous les cas étudiés, c'est le bivalent à bras inégaux qui est éliminé. Sur quelques préparations particulièrement favorables, on observe une fragmentation et une pycnose qui touchent rapidement la totalité de ce bivalent.

Quoi qu'il en soit, l'anaphase et la télophase de cette première division paraissent se dérouler normalement, aussi bien pour les cellules à trois bivalents que pour celles qui n'en possèdent que deux. On aboutit ainsi à la formation de spermatocytes de deuxième ordre de deux types, lesquels sont indiscernables l'un de l'autre après la télophase. Etant donné l'absence d'anomalies, de pycnoses et de dégénérescences cellulaires dans la suite de la spermatogenèse , il parait vraisemblable que les deux catégories de spermatocytes II donnent naissance aussi à deux types de spermatides puis de spermatozoïdes. Je dois toutefois signaler que je n'ai pas eu l'occasion d'observer sur mon matériel, les divisions de maturation de second ordre des spermatocytes II à deux bivalents. Il est permis de se demander si cette division a vraiment lieu et si un tel spermatocyte poursuit son évolution, ou bien si l'absence d'observation caryologique confirmant cette interprétation n'est pas tout simplement due au fait qu'il est difficile d'étudier les métaphases de second ordre qui en raison de leur briéveté sont toujours infiniment plus rares que les métaphases de premier ordre. De toute façon , les métaphases I avec élimination du bivalent à bras inégaux restent peu fréquentes et ne représentent pas plus de 3% de l'ensemble des divisions correspondant à ce stade chez un même individu. Un tiers seulement des animaux étudiés présentent une telle anomalie et d'autre part, il est pratiquement certain que ces gamètes anormaux n'ont pratiquement aucun rôle génétique, car l'examen du caryotype de plusieurs centaines de <u>Gyratrix hermaphroditus</u> roscovites m'a toujours permis de dénombrer 2 n = 6 chromosomes.

En métaphase de seconde division, les bivalents ont seulement une dizaine de microns de longueur et 2 µ d'épaisseur ; la plupart du temps,

[illegible] possible de dénombrer [illegible] des pôles [illegible] chro-
mosomes qui fourniront la chromatine du noyau des spermatides.

γ) Spermiogenèse.

Au moment de leur formation, les jeunes spermatides ont un noyau sphérique de 5 µ de diamètre, entouré d'une mince pellicule cytoplasmique de 2 à 3 µ d'épaisseur. Toutes les spermatides appartenant à un même cyste restent groupées en amas morulaire car elles sont réunies les unes aux autres par des trabécules cytoplasmiques. Sur leur face qui correspond au côté externe du cyste, le microscope en contraste de phase permet de déceler deux flagelles mesurant près de 100 µ de long insérés tout près l'un de l'autre. C'est à leur voisinage immédiat qu'apparait un peu plus tard la protubérance cytoplasmique qui annonce la formation du spermatozoïde et auquel les flagelles viennent s'incorporer lorsqu'elle atteint une vingtaine de microns. Un peu après le cytoplasme, le noyau s'étire et devient filiforme sauf dans sa partie antérieure claviforme qui demeure dans la masse cytoplasmique de la spermatide. Le noyau spermatique s'allonge considérablement et présente dans le testicule une zone antérieure renflée ; le plus souvent. il ne prend sa forme définitive que dans le canal déférent ou dans la vésicule séminale où s'achève la maturation des spermatozoïdes.

Le spermatozoïde achevé mesure de 180 à 250 µ de long sur un peu moins de 2 µ de large. Le noyau occupe une place considérable, puisque seuls les 30 à 40 µ de l'extrémité postérieure correspondent à la queue du spermatozoïde. Même avec l'aide du microscope à contraste de phase, il n'est pas possible de distinguer l'acrosome et la limite entre le corps et la queue est surtout visible parce que la région du noyau garde en permanence une certaine rigidité, tandis que la région caudale est continuellement animée d'ondulations régulières.

En définitive sur le plan caryologique, les deux populations de *Gyratrix hermaphroditus* des environs de Roscoff qui paraissent strictement analogues à cet égard sont caractérisées par un caryotype à 2 n = 6 chromosomes (n = 3), à méiose régulière, produisant des spermatozoïdes très nombreux et exceptionnellement des gamètes déficients par élimination sélective de l'un des trois bivalents ; ces gamètes apparemment indiscernables des normaux sont dépourvus de tout rôle génétique et n'aboutissent [illegible]

la formation d'individus aneuploïdes. Ces observations sont en contradiction avec celles de Reuter (1961) qui considère les exemplaires de *Gyratrix hermaphroditus* à 2 n = 6 chromosomes, comme des individus triploïdes à spermatogenèse abortive.

c - *Baltoplana magna* (Fig. 5).

α) *Multiplication.*

Ici encore les cellules germinales primordiales occupent la partie antérieure des testicules et la différenciation des cystes se réalise progressivement de l'avant vers l'arrière. Au cours de la phase de multiplication qui donne naissance aux spermatogonies, les mitoses permettent d'observer les 10 chromosomes métacentriques qui constituent le caryotype de cette espèce : on en dénombre une paire de grande taille dont les bras légèrement inégaux mesurent de 7 à 9 µ , deux paires moyennes dont les bras atteignent 5 à 7 µ , et enfin deux petites paires dont les bras ne dépassent pas 4 à 5 µ.

β) *Maturation.*

La première division de maturation n'offre aucun caractère remarquable : au diplotène, l'appariement des filaments chromosomiques homologues donne bien 5 bivalents dont les bras mesurent de 12 à 6 µ. A la métaphase, les bivalents se sont nettement raccourcis et leurs bras ne dépassent pas 3 à 6 µ. La plupart du temps, on observe un seul chiasma par chromosome, parfois deux (un sur chacun des bras) chez le plus grand bivalent qui est alors un anneau. L'anaphase et la télophase se déroulent normalement.

La seconde division de maturation est également normale et les 5 bivalents sont encore un peu plus petits et plus grêles qu'en métaphase I.

γ) *Spermiogenèse.*

Les spermatides formées restent reliées entre elles par des trabécules cytoplasmiques qui occupent la partie centrale du cyste. Piriformes, elles n'atteignent pas tout à fait 10 µ de long sur 7 à 8 µ de large et contiennent un noyau sphérique de 4 à 5 µ de diamètre. Par la suite le

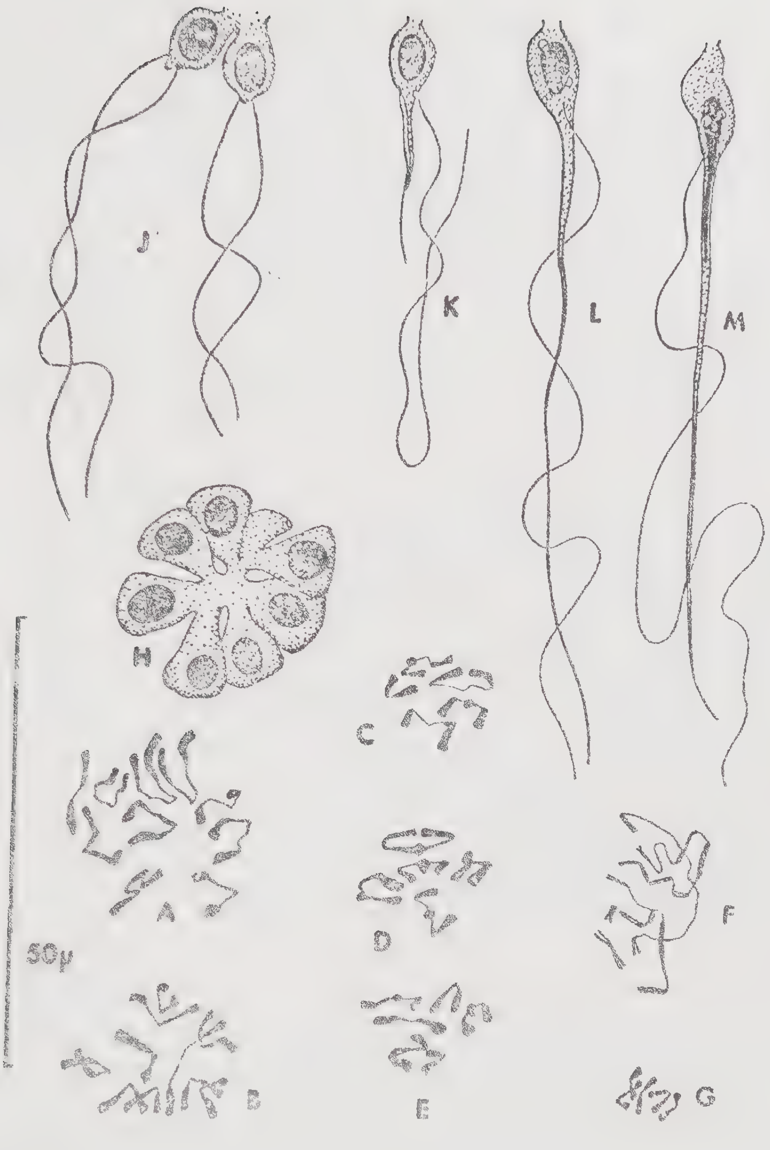


Fig. 5.- Spermatogenèse de Baltoplana magna.
A et B : métaphases mitotiques dans des divisions spermatogoniales. - C, D et E : métaphases I. - F : stade zygotène. - G : métaphase II. - H : cyste de spermatides. - J : jeunes spermatides. - K, L et M : spermiogenèse.

noyau acquiert une forme ovoïde tandis que nait une petite protubérance à la surface du cytoplasme et sur le pôle opposé au point d'insertion de la spermatide sur le cyste testiculaire. Deux flagelles dont la longueur peut atteindre 100 µ s'insèrent côte à côte sur cette protubérance ; cette dernière s'allonge ensuite en incorporant très rapidement l'un des flagelles ; l'autre reste libre un certain temps, si bien que les spermatides âgées sont en apparence uniflagellées. Simultanément, le noyau devient cylindrique, s'étire en arrière et s'engage dans le corps du spermatozoïde en formation, lequel présente durant toute la spermiogenèse un léger renflement de sont extrémité antérieure, qui ne disparait que chez les spermatozoïdes mûrs.

Le spermatozoïde achevé de Baltoplana magna est filiforme et de taille assez considérable, puisqu'il mesure en moyenne 250 à 300 µ de long sur environ 2 µ de large. L'acrosome long de 3 µ forme un très léger renflement réfringent par rapport au noyau, et la limite entre le corps et la queue du spermatozoïde est indistincte ; seul le sixième postérieur présente de temps à autre des ondulations régulières, tandis que la partie antérieure conserve en permanance une certaine rigidité.

Il parait inutile de multiplier les exemples qui se rattachent tous à l'un ou l'autre des types qui viennent d'être décrits.

3 - Conclusion.

Les observations qui précèdent confirment donc en les étendant, les travaux de Koltzoff et Hendelberg. Comme chez la très grande majorité des Plathelminthes, la spermatide des Calyptorhynques possède deux flagelles qui sont incorporés ultérieurement le long des flancs du spermatozoïde sans constituer une membrane ondulante, comme cela se produit chez certains Acoeles. Les spermatozoïdes achevés de tous les Calyptorhynques étudiés sont étroits et filiformes, sans pièce intermédiaire visible et mesurent suivant les espèces de 100 à 300 µ (Koltzoff, 1909 ; von Graff, 1908, p.2232 ; Hendelberg, 1969, p. 32 à 34).

L'étude comparative de la spermatogenèse des Calyptorhynques révèle que la formation du spermatozoïde ne se produit pas toujours d'une façon parfaitement identique. Chez la plupart des genres étudiés, la protubérance cytoplasmique qui annonce la formation du spermatozoïde apparait au ni-

veau même ou à proximité immédiate du point d'insertion des deux flagelles sur la spermatide ; il en est ainsi chez *Acrorhynchides caledonicus* (cf. Hendelberg, 1969, fig. 45, p. 33), *A. robustus*, *Gyratrix hermaphroditus*, *Proschizorhynchus pectinatus* et *Baltoplana magna*. Dans quelques autres cas cependant, l'apparition de la protubérance cytoplasmique constituant l'ébauche du spermatozoïde apparait en un point quelconque de la surface de la spermatide, indépendamment des deux insertions flagellaires qui sont alors éloignées l'une de l'autre. L'incorporation des flagelles dans la paroi du spermatozoïde se réalise plus tard, lorsque ce dernier a acquis un certain développement ; c'est ce qu'on observe chez *Prognathorhynchus typhlus* (Hendelberg l. c., fig. 43, p. 33) et *Polycystis nägelii*.

Dans la mesure où l'on adopte l'hypothèse phylogénique classique qui considère les Calyptorhynques comme apparentés à certains Typhloplanoïdes, on doit regarder les premières espèces citées comme plus primitives à cet égard que les secondes. En effet chez les Typhloplanoïdes, le spermatozoïde se forme au point d'insertion des deux flagelles de la spermatide. Il n'est pas inutile cependant de souligner que cette ressemblance initiale mise à part, Typhloplanoïdes et Calyptorhynques s'opposent en tous points puisqu'au cours de la spermatogenèse de ceux-là les deux flagelles sont entraînés par la croissance du corps du spermatozoïde jusque dans sa partie caudale où ils persistent à l'état libre.

II. - APPAREIL GENITAL FEMELLE.

A. - ANATOMIE TOPOGRAPHIQUE DU TRACTUS GENITAL FEMELLE.

Comme les autres Ectolécithophores dont ils ont toutes les caractéristiques, les Calyptorhynques possèdent à la fois des germigènes produisant les gamètes femelles proprement dits et des vitellogènes (ou glandes vitellines) élaborant des cellules vitellines, quelquefois qualifiées de vitellocytes ou de cellules nourricières.

1 - Germigène.

Chez la grande majorité des Calyptorhynques, les germigènes sont pairs et symétriques, localisés habituellement dans la moitié postérieure

du corps. Parfois le germigène est unique : les Polycystidae du genre *Gyratrix*, la totalité des Gnathorhynchidae, les Schizorhynchidae à l'exception du genre *Carcharodorhynchus*, les Karkinorhynchidae à l'exception du genre *Baltoplana*, les Diascorhynchidae dans leur ensemble, en fournissent de nombreux exemples. Chez certains *Polycystis*, les germigènes sont généralement ovoïdes piriformes ou globuleux. Les ovocytes mûrs sont évacués par un oviducte qui s'insère à l'un des pôles de chaque glande génitale femelle.

2 - *Vitellogène*.

Les vitellogènes habituellement au nombre de deux sont localisés latéralement et dorsalement tout le long de l'intestin. Chez les genres où la réduction des organes génitaux femelles entraîne la suppression de l'un des deux germigènes, le vitellogène correspondant disparaît aussi. Dans la plupart des cas, la forme de chaque vitellogène est celle d'un cylindre irrégulier plus ou moins arrondi ou effilé à ses deux extrémités ; celles-ci sont parfois multilobées comme chez *Opisthocystis goettei*. Chez les espèces possèdant un seul vitellogène, ce dernier prend souvent un aspect particulier, soit ramifié à 3, 4 ou 5 digitations libres (*Cystirete graefei* et *Neopolycystis tridentata*) ou anastomosées (*Gyratrix*) et recouvrant dorsalement l'intestin, soit simple claviforme (Gnathorhynchidae) aplati et foliacé (certains *Prognathorhynchus*).

A la fin de leur différenciation, les cellules vitellines sont entraînées dans le canal vitellin (vitelloducte) qui s'ouvre sur la face interne ou à l'extrémité postérieure de chaque vitellogène. Les canaux vitellins confluent rapidement avec les oviductes en constituant un canal génital femelle commun ou canal ovovitellin qui débouche dans l'atrium génital commun.

3 - *Utérus*.

L'utérus est formé par une évagination tubulaire de la paroi et de la musculature de l'atrium génital. La partie terminale de l'organe forme une poche très dilatable où viennent s'accumuler les ovocytes et les cellules vitellines au moment de la formation de la capsule ovigère. Le canal utérin qui fait communiquer la poche avec l'atrium génital commun

présente un sphincter bien marqué et reçoit la sécrétion des glandes utérines souvent qualifiées de façon quelque peu inexacte de glandes coquillières. Habituellement, les orifices des canaux ovovitellin et utérin débouchent face à face dans l'atrium. Chez les quelques espèces qui sont dépourvues d'utérus, la capsule ovigère se constitue dans l'atrium génital commun.

4 - Bourse séminale.

La bourse séminale est un volumineux massif syncitial homogène à cytoplasme vacuolaire, communiquant avec l'oviducte ou le canal ovovitellin par un canal spermatique dont l'orifice possède fréquemment une pièce cuticulaire en forme de tube ou d'entonnoir. L'unique fonction physiologique de cet organe est la résorption des spermatozoïdes après l'accouplement et la fécondation. Ce type de bourse semble assez rare chez les Calyptorhynques ; il est connu chez Neoschizorhynchus brevipharyngeus, par exemple. Karling (1956) a également signalé l'existence d'une telle bourse (qu'il appelle bourse femelle), au fond du canal ovovitellin de Polycystis nägelii. Je dois reconnaître que je n'ai pu retrouver cette structure sur les individus des côtes bretonnes ; il s'agit peut-être d'une différenciation temporaire ou particulière à une sous-espèce géographique puisque les exemplaires étudiés par Karling provenaient de l'Antarctique.

5 - Bourse copulatrice.

En fait, chez la plupart des Calyptorhynques le rôle de la bourse n'est pas limité à la résorption des spermatozoïdes en voie de dégénérescence, mais assure encore leur survie pendant un certain temps. Ce type de bourse que l'on qualifie habituellement de copulatrice est très diversifié, tant sur le plan de sa structure que sur celui de ses relations anatomiques avec les différents organes de l'appareil génital. La bourse copulatrice présente une structure syncytiale homogène analogue à celle de la bourse séminale et contient des vacuoles plus ou moins nombreuses renfermant des amas de spermatozoïdes dégénérés. Dans la région de l'orifice de la bourse, une volumineuse cavité bourrée de spermatozoïdes actifs, joue en fait le rôle de réceptacle séminal. Dans certains cas plus rares, la grosse vacuole où s'accumulent les spermatozoïdes après chaque accou-

plement présente une paroi plus ou moins différenciée, comme par exemple chez Proschizorhynchus echinulatus et chez divers Karkinorhynchus (K. purpureus, K. bruneti, etc.). Chez d'autres espèces d'ailleurs, la bourse présente deux parties plus ou moins nettement distinctes correspondant chacune à l'une des deux fonctions de cet organe.

Il est rare que la bourse copulatrice soit reliée par le seul canal spermatique avec le reste des organes génitaux, comme cela se produit chez Proschizorhynchoïdes glandulis, Proschizorhynchus bivaginatus et Karkinorhynchus bruneti. Le plus souvent, il existe en outre un vagin faisant communiquer la bourse soit avec l'atrium génital (bourse à vagin interne) ce qui est le cas le plus fréquent, soit avec l'extérieur (bourse à vagin externe) comme par exemple chez Gyratrix parmi les Polycystidae, certains Proschizorhynchus (P. triductibus, P. gullmarensis), Amphirhynchus caudatus, Thylacorhynchus ambronensis parmi les Schizorhynchidae, Cheliplanilla boadeni parmi les Karkinorhynchidae. Plus rare encore est l'existence de deux vagins pairs signalée chez Proschizorhynchus bivaginatus et P. spiraciro.

L'expulsion des spermatozoïdes au moment de la fécondation peut se faire par le vagin lorsqu'il est interne, il possède alors une paroi musculaire importante comme chez Polycystis nägelii ou plus habituellement par le canal spermatique.

Karling a signalé la présence simultanée d'une bourse copulatrice (qu'il qualifie de bourse mâle) et d'une bourse séminale (bourse femelle) chez Polycystis nägelii. Chez Karkinorhynchus primitivus, il y a deux bourses copulatrices de part et d'autre du germigène.

6 - Réceptacle séminal.

Comme on vient de le signaler, la bourse copulatrice joue par une de ses parties un rôle identique à celui d'un réceptacle séminal. Chez quelques espèces néanmoins, il existe un véritable réceptacle séminal indépendant de la bourse : Polycystis riedli, Typhlopolycystis caeca, Duplacrorhynchus minor (Polycystidae), Utelga scotica et U. bocki (Koinocystidae) et Placorhynchus octaculeatus (Placorhynchidae).

B. - ANATOMIE MICROSCOPIQUE DU GERMIGENE.

Les germigènes des Calyptorhynques ne renferment qu'une seule catégorie cellulaire constituant la lignée ovogénétique, à l'exclusion de toute cellule intersticielle ou glandulaire. Ils sont entourés par une membrane épithéliale unistratifiée très mince et difficile à observer, dont le prolongement forme la paroi de l'oviducte.

Le plus souvent, les germigènes localisés en arrière de l'orifice génital commun ont leur zone germinative située postérieurement par rapport à l'insertion des oviductes. C'est toutefois l'inverse chez certains Polycystidae dont les germigènes sont situés en avant de l'orifice génital ; dans ce cas, la zone germinative occupe la partie antérieure de l'organe sur lequel l'oviducte s'insère postérieurement.

1 - Cas général.

Chez la plupart des Calyptorhynques, les germigènes ont une forme ovoïde allongée ou piriforme, le pôle le plus étroit correspondant à la zone germinative. Les ovocytes de premier ordre s'empilent au fur et à mesure de leur formation en une série régulière à peu près linéaire, de sorte que les ovocytes les plus développés se trouvent dans le germigène à l'extrémité opposée à la zone germinative.

2 - Cas des espèces à germigènes globuleux.

Il arrive toutefois que la structure du germigène soit différente, en particulier chez plusieurs espèces appartenant aux genres *Macrorhynchus* et *Polycystis* où le germigène a une forme globuleuse, presque régulièrement sphérique. La zone germinative est alors localisée dans un secteur périphérique de l'organe dont tout le reste est occupé par la masse compacte des ovocytes de premier ordre en cours d'accroissement.

Chez *Polycystis nägelii* notamment, la zone germinative est localisée dans la région dorsale et antérieure du germigène où elle est constituée par un petit massif d'une dizaine de cellules d'environ 10 µ de long, à noyau ovalaire arrondi et à cytoplasme très réduit. Ces initiales germinatives se divisent par mitoses successives et il est intéressant de constater que cette multiplication cellulaire se réalise de façon synchrone dans

les deux germigènes d'un même animal. Les ovogonies ainsi formées sont presque identiques aux cellules qui leur ont donné naissance et se placent latéralement et ventralement par rapport à la zone germinative autour de laquelle elles édifient une calotte. Les ovogonies se transforment sur place en ovocytes et subissent un début d'accroissement. La partie médiane de la glande génitale est occupée par des ovocytes en cours d'accroissement, tandis que dans sa partie ventrale s'accumulent les gonies qui ont terminé leur développement. En définitive, chez Polycystis nägelii le germigène paraît constitué de trois zones correspondant à des étapes progressives de l'ovogenèse et disposées concentriquement par rapport à la zone germinative dorsale. Chacune des zones précédentes compte une dizaine ou une douzaine de cellules, à l'exception de la zone ventrale où les ovocytes matures sont rarement plus de six ou sept.

C. - EVOLUTION DES CELLULES OVOGENETIQUES.

Sauf chez les Triclades où elle a fait l'objet de plusieurs travaux de von Gelei ainsi que de Benazzi et ses collaborateurs, l'étude de l'ovogenèse presque toujours limitée aux phénomènes de maturation n'a été réalisée que de façon exceptionnelle chez les Dalyellioïdes (Hallez, 1909 ; Patterson, 1912 ; Ball, 1916), les Typhloplanoïdes (Schneider, 1883 ; Bresslau, 1904) et les Plagiostomides (Newton, 1968).

Comme chez tous les autres Métazoaires, l'ovogenèse comprend trois étapes successives correspondant aux phases 1) de multiplication des ovogonies, 2) d'accroissement des ovocytes et 3) de maturation. Les deux premières phases se déroulent dans le germigène tandis que la dernière se situe plus tardivement au moment de la formation de la coque ovigère ou immédiatement après. Suivant l'ordre chronologique, l'exposé détaillé des phénomènes de maturation trouvera place dans un chapitre ultérieur, après l'étude de la fécondation.

1 - Phase de multiplication.

a - Cas général.

La structure des germigènes telle qu'elle vient d'être décrite, permet de comprendre aisément le mode de formation des gamètes. Chez les

espèces dont les germigènes ont la structure "normale" définie plus haut, la zone germinative réduite d'ailleurs à une ou deux cellules doit produire seulement une ovogonie de temps en temps.

b - Cas des espèces à germigènes globuleux.

A la différence des espèces précédentes dont la zone germinative élabore les gonies successivement, l'une après l'autre et à des intervalles de temps assez considérables, certains Polycystis et Macrorhynchus ont une zone germinative à fonctionnement cyclique, les crises d'activité mitotique qui donnent naissance à de nouvelles séries d'ovogonies étant entrecoupées de périodes de repos.

2 - Phase d'accroissement.

Pendant toute la durée de leur séjour dans le germigène, les cellules génitales femelles subissent un accroissement de taille considérable, aussi bien au niveau du noyau qu'à celui du cytoplasme.

La différenciation des ovogonies en ovocytes de premier ordre se marque par une augmentation limitée du volume cytoplasmique de la cellule. Le noyau conserve un aspect comparable à celui qu'il présentait dans l'ovogonie, avec une chromatine assez dense répartie dans toute la caryolymphe où apparait habituellement un petit nucléole.

Le grand accroissement qui suit cette phase préliminaire se caractérise par une augmentation bien plus considérable des volumes cytoplasmique et nucléaire. La caryolymphe s'éclaircit progressivement en raison à la fois de l'accroissement du volume du noyau et de la concentration du matériel chromatinien qui se rassemble pour former quelques granulations d'abord disséminées dans la cavité nucléaire, et qui plus tard viennent se placer à la périphérie du noyau le long de la face interne de la membrane nucléaire. En même temps, le nucléole devient de plus en plus volumineux, manifestant ainsi l'intensification des processus métaboliques qui assurent les synthèses nécessaires à l'accroissement cytoplasmique.

La fin de l'accroissement se marque habituellement par l'apparition des premiers filaments chromosomiques qui se forment à partir des granulations de chromatine dispersées à la périphérie du noyau. La plupart du temps, le blocage de l'ovocyte se réalise au tout début du stade leptotène

et les filaments chromosomiques sont encore incomplètement formés. Le nucléole demeure toujours aussi volumineux mais il se creuse d'une cavité excentrique.

Les observations précédentes montrent donc que le blocage des ovocytes se réalise de façon très précoce au début du stade leptotène, comme j'ai pu le vérifier chez de très nombreuses espèces représentant pratiquement toutes les familles de Calyptorhynques actuellement connues. L'examen des capsules ovigères fraîchement pondues confirme cette conclusion, puisqu'elles contiennent alors presque sans exception des ovocytes à noyau nucléolé, ce qui est l'indice d'une prophase encore peu avancée.

Chez *Polycystis nägelii*, l'abondance du matériel a permis de préciser par des techniques histochimiques la constitution du cytoplasme ovocytaire qui s'est révélé très riche en protéines soufrées et en certains acides aminés, mais en revanche pauvre en glucides et en lipides.

Il n'est pas possible de mettre en évidence un plan ou un axe de polarité dans les ovocytes mûrs des Calyptorhynques. L'ovocyte à maturité est en effet régulièrement sphérique lorsqu'il n'est pas comprimé par les cellules qui l'entourent et possède un noyau central ou quelquefois à peine excentrique. Contrairement aux observations réalisées sur d'autres Turbellariés (Ball, 1916 ; Seilern-Aspang, 1957) la recherche d'une éventuelle hétérogénéité dans la répartition de certaines substances (acide ribonucléïque en particulier) ou d'organites cytoplasmiques (mitochondries) n'a fourni chez les Calyptorhynques, aucun résultat positif.

Enfin, il n'est peut-être pas sans intérêt de tenter une estimation du taux d'accroissement des ovocytes parvenus au terme de leur différenciation. A titre d'exemple, chez *Polycystis nägelii* les ovogonies mesurent en moyenne 10 à 12 µ de long et le noyau occupe la presque totalité de la cellule ; quant aux ovocytes mûrs, il atteignent 40 à 50 µ de diamètre et leur noyau 15 à 18µ .

Ce doublement de toutes les dimensions linéaires de l'ovocyte mine une augmentation du volume cellulaire qui en fin de croissance est environ quatre fois supérieur à celui de l'ovogonie. Comme le montrent les mensurations précédentes, l'accroissement de volume de l'ovocyte intéresse tout autant le cytoplasme que le noyau. L'ovocyte est donc le siège d'une véritable vitellogenèse analogue à celle de tous les autres animaux.

Tableau I. - Etude histochimique
des réserves de l'ovocyte de Polycystis nägelii.

	Coloration	Référence	Coloration du cytoplasme de l'ovocyte
Fonctions des aldéhydes et Polysaccharides	Schiff	Lison, 1960	incolore
	A. P. S.	id.	incolore
	Bleu alcian non oxydé à Ph 2,6 plus phloxine.	Mowry, 1963	incolore
	Mébachromasie bleue de Toluidine	Lison, 1960	incolore
Protéines	Alloxane - Schiff	Lison, 1960	rose
	Ninhydrine - Schiff	id.	rose pâle
1- radicaux sulfhydrilés	Chèvremont et Frederic	id.	bleu vert
	Chévremont après blocage des groupes SH	id.	vert
	Chévremont après blocage du groupe SH et réduction des SS en SH	id.	incolore à vert très pâle
	D. D. D.	id.	pourpre violacé
	R. S. R.	id.	jaune orange
2- radicaux aromatiques	Benzidine tétrazotée	Pearse, 1953	violet
- Tyrosine	Milon	Lison, 1960	rose
	Morel et Sisley	Glenner et Lillie 1959	rose
- Tryptophane	Diméthylaminobenzaldéhide	Lison, 1960	bleu
3- Arginine	Sakaguchi	Lison, 1960	rose
4- Histidine	Benzoylation + Benzidine tétrazotée	Pearse, 1953	incolore
5- Protéines basiques	Bleu de bromophénol mercurique	Mazia et al., 1953	bleu
	Bleu de bromophénol aqueux	Smyth, 1954	bleu
6- Nucléoprotéines	Unna - Pappenheim	Lison, 1960	rouge
	Unna - Pappenheim après nucléase	id.	incolore
Lipides	noir Soudan	id.	incolore à gris pâle

3 - Conclusion.

En définitive, l'ovocyte mûr des Turbellariés Calyptorhynques apparait comme une cellule de grande taille (en moyenne 50 µ de diamètre) à gros noyau (20 à 25 µ de diamètre) central pourvu d'un nucléole et bloqué en début du stade leptotène.

L'accroissement du volume de l'ovocyte des Turbellariés Ectolécithophores est tout à fait comparable à celui de bien d'autres groupes animaux de même complexité organique et dépourvus de glandes vitellines, comme les Turbellariés Endolécithophores, les Némertes, les Némathelminthes et même certains Annélides. A cet égard, la présence de glandes vitellines ne constitue donc pas un avantage biologique décisif, pas plus d'ailleurs qu'elle ne permet la production d'une quantité d'ovocytes particulièrement élevée. En effet chez les Ectolécithophores le nombre d'ovocytes produits par les germigènes est du même ordre de grandeur sinon plus faible dans bien des cas, que celui fourni par les ovaires des espèces appartenant aux autres groupes zoologiques déjà cités.

On a considéré pendant longtemps que les germigènes et les vitellogènes des Turbellariés Ectolécithophores réalisaient indépendamment les fonctions de gamétogenèse et de vitellogenèse. Or il parait évident qu'il n'y a pas lieu d'opposer comme on l'a fait jusqu'à présent, le fonctionnement des germigènes et des vitellogènes de ces animaux, à la physiologie de l'ovaire de tous les autres Métazoaires où ces deux fonctions se réalisent simultanément dans un même organe. Comme chez les autres animaux, l'augmentation importante du volume cytoplasmique de l'ovocyte des Turbellariés Ectolécithophores résulte donc d'une véritable vitellogenèse qui par la nature des produits synthétisés, diffère de l'accumulation des réserves dans le cytoplasme des cellules vitellines.

CHAPITRE II

ACCOUPLEMENT ET FECONDATION.

En raison de la rareté relative de la plupart des espèces de Turbellariés et des difficultés de leur élevage, cet aspect de leur biologie demeure particulièrement mal connu, bien que quelques travaux réalisés surtout sur les Triclades en aient montré tout l'intérêt. Le présent chapitre envisagera donc successivement 1) les différentes modalités d'insémination, 2) les possibilités de conservation des spermatozoïdes après l'accouplement, 3) la place de la fécondation et enfin 4) la maturation des ovocytes et la caryogamie qui lui succède.

I. - INSEMINATION.

L'accouplement chez de nombreux Turbellariés est précédé par une poursuite dont la durée est très variable et au cours de laquelle l'un des conjoints pourchasse l'autre qualque temps avant de le rattraper.

A. - OBSERVATIONS ANTERIEURES.

L'insémination, qui semble toujours réciproque lorsque les partenaires ne sont pas dérangés, est simultanée ou successive. Les processus de transmission du sperme actuellement connus chez les Turbellariés peuvent être rattachés à deux types fondamentaux. Le type le plus simple est sans conteste celui que l'on qualifie d'injection hypodermique au cours de laquelle le sperme d'un des individus du couple est émis en un point quelconque du parenchyme sous épidermique du conjoint.

1 - Injection hypodermique.

Dans ce cas, l'insémination est habituellement réciproque et simultanée mais il existe des exceptions comme l'Acoele *Pseudaphanostoma psammo-*

philum (Appelt, 1969, p. 276 - 278 et fig. 12 - 13). Durant l'accouplement les deux conjoints restent enlacés ou progressent côte à côte lorsque l'insémination est simultanée et qu'ils ont tous les deux la tête tournée du même côté. Si l'insémination n'est pas simultanée ou si les conjoints ne sont pas orientés de la même façon, le plus volumineux se déplace en entraînant son partenaire.

Cette insémination hypodermique est fréquente chez les Acoeles (Gardiner, 1898 ; von Graff , 1904 - 1908 ; Hyman, 1937 ; Costello et Costello, 1938 ; Wesblad, 1946) et les Plagiostomides (observations personnelles) Chez Monocelis fusca, les deux animaux qui se placent tête-bêche, enroulent étroitement l'une contre l'autre leur extrémité postérieure (Giesa, 1966, p. 146, fig. 2).

2 - Copulation.

A l'injection hypodermique s'oppose la copulation véritable dans laquelle le sperme est éjaculé à l'intérieur d'un organe du tractus génital femelle du conjoint : atrium commun, canal ovovitellin, bourse copulatrice ou réceptacle séminal suivant les cas. Ce mode d'insémination a été observé chez quelques Acoeles (Appelt, 1969), chez un Macrostomide (Ax et Borkott, 1968) et chez les Typhoplanoïdes (Luther, 1904). C'est également à ce type que se rattache Gyratrix hermaphroditus seule espèce de Calyptorhynque dont l'accouplement ait été observé (Hallez, 1873, p.582-583 et 1879, pl. 3, fig. 5).

Chez les espèces à pore génital ventral, les deux partenaires s'enlacent étroitement ventre à ventre, la tête dirigée du même côté. Ils continuent parfois à se déplacer pendant l'accouplement en tourbillonnant sur eux-même comme les Dalyellioïdes Provortex balticus par exemple, ou bien ils s'immobilisent comme la plupart des Triclades (Wilhelmi ,1909), les Typhloplanoïdes Mesostomidae Bothromesostoma personatum (Brinkmann, 1906, fig. 13 et 14), Mesostoma ehrenbergi (Steinmann et Bresslau, 1913, fig. 143) et Typhloplanidae Opistomum pallidum (Brinkmann, l. c., fig. 21).

Lorsque l'orifice génital est postérieur comme c'est le cas chez la majorité des Polyclades, certains Triclades (Procerodes dohrni) et Gyratrix hermaphroditus, les deux individus s'orientent en sens opposé et restent en contact seulement par leur extrémité caudale.

B. - OBSERVATIONS PERSONNELLES.

1 - Gyratrix hermaphroditus.

J'ai repris personnellement l'étude de cette espèce et mes observations confirment celles de Hallez en les complétant sur certains points. La technique utilisée est la même que celle de cet auteur ; elle consiste à isoler des Gyratrix pendant plusieurs jours puis a en observer l'accouplement lorsqu'ils sont réunis dans un même récipient.

Habituellement, une poursuite assez brève précède l'accouplement et l'animal pourchassé s'arrête lorsqu'il est sur le point d'être rattrapé Le poursuivant enfonce son extrémité antérieure à l'arrière du corps de son partenaire, l'obligeant ainsi à se rétracter partiellement en prenant une allure piriforme qui dégage largement l'orifice externe du vagin. En même temps, le poursuivant se contracte lui aussi et prend une forme exactement identique en rejetant de côté son appareil copulateur. Il pivote ensuite rapidement autour de l'extrémité postérieur de son conjoint. Le dernier demeure immobile de sorte que les deux animaux se trouvent finalement opposés, l'appareil copulateur de chacun d'eux en face de l'orifice du vagin de l'autre ; l'insémination est réciproque. Pendant toute la durée de l'accouplement, les deux animaux se tiennent pratiquement immobiles. Comme l'a déjà souligné Hallez, "le stylet ne joue aucun rôle dans l'accouplement, tandis que la gaine est animée d'un mouvement de va-et-vient continuel d'arrière en avant. Ces mouvements sont produits par la contraction des muscles rayonnants qui se trouvent à la partie supérieure de cette pièce ...". Ces diverses opérations se succèdent très rapidement et ne durent pas plus de 20 à 60 secondes en tout.

2 - Polycystis nägelii.

Grâce aux nombreux élevages réalisés avec cette espèce, j'ai eu l'occasion à diverses reprises, d'en observer l'accouplement. Celui-ci débute comme chez G. hermaphroditus, par une poursuite à vive allure qui dans ce cas particulier, peut durer une minute à une minute et demi. Lorsque les deux animaux se rejoignent, le premier ralentit sa course tandis que le second le pousse par derrière. Finalement, le premier s'arrête tout à fait

et se couche sur le flanc en se contractant légèrement en arc de cercle. Le poursuivant passe par-dessus la partie postérieure du corps de son partenaire puis les deux animaux s'enlacent étroitement ventre à ventre. Ils provoquent ensuite l'extrusion d'une partie des parois de l'atrium génital commun et l'organe copulateur qui est entraîné à sa suite apparait à l'extérieur.

Il est vraisemblable que l'intromission des appareils copulateurs des deux partenaires n'est pas simultanée mais se fait successivement chez l'un puis chez l'autre. Quoiqu'il en soit, j'ai vérifié sur le vivant et sur coupes histologiques d'individus fixés immédiatement après l'accouplement, que l'insémination est réciproque chez cette espèce. Il est intéressant de remarquer à cette occasion que l'atrium génital des animaux qui viennent de s'accoupler est vide de spermatozoïdes. Ceux-ci doivent donc être éjaculés directement dans la bourse copulatrice ou tout au moins à proximité immédiate de son ouverture dans l'atrium.

Pendant l'accouplement qui ne dure pas plus de 20 à 30 secondes, les deux animaux enlacés progressent lentement en tourbillonnant sur eux-même. Durant cette période, ils sont très sensibles au moindre dérangement qui provoque leur séparation immédiate.

En conclusion, chez Gyratrix hermaphroditus et Polycystis näqelii qui sont les deux seuls Calyptorhynques connus à cet égard, le sperme est éjaculé directement dans la bourse copulatrice.

II. - MISE EN RESERVE DU SPERME.

Etant donné les modalités de l'accouplement, il est bien évident que le sperme accumulé dans la bourse copulatrice doit conserver quelques temps son pouvoir fécondant. Il est facile de vérifier que les individus séparés immédiatement après l'accouplement produisent plusieurs pontes parfaitement fécondes dans les jours qui suivent leur isolement : selon la température ambiante et l'importance des réserves vitellines, il est possible d'obtenir de une à quatre capsules ovigères fournissant à terme de jeunes individus normalement constitués. Au delà d'une quinzaine de jours, l'obtention de pontes est beaucoup plus rare et la plupart de celles-ci ne présentent aucun signe de développement.

D'autre part, les observations d'animaux vivants - particulièrement aisée dans le cas de Gyratrix hermaphroditus dont le corps est très transparent et plus délicate chez Polycystis nägelii en raison de la pigmentation du parenchyme - confirmées par des contrôles histologiques nombreux ont permis de préciser à la fois la durée de survie et le lieu de stockage du sperme après l'accouplement.

Après l'insémination, le sperme du conjoint s'accumule uniquement dans la bourse copulatrice et sauf rares exceptions, le reste du tractus génital femelle n'en contient pas. La bourse est un organe irrégulièrement piriforme dont la partie la plus étroite se prolonge en formant le vagin tandis que le reste présente un aspect vacuolaire très caractéristique. L'importance de ces vacuoles est très variable et la plus volumineuse qui est aussi la plus proche de l'orifice vaginal occupe près de la moitié de l'organe ; elle est bourrée d'une masse de spermatozoïdes qui demeurent actifs jusqu'à 10 à 15 jours après l'accouplement comme l'ont montré les isolements. En revanche, dans la partie distale de la bourse, les vacuoles sont nettement plus nombreuses et plus petites et les spermatozoïdes qu'elles contiennent présentent diverses images de dégénérescence.

La bourse a donc très certainement une fonction double : celle de réceptacle séminal dans sa partie vaginale qui doit libérer une certaine quantité de spermatozoïdes un peu avant chaque ponte, et celle d'organe de résorption dans la partie opposée à la précédente.

En définitive, la survie des spermatozoïdes mis en réserve à l'intérieur de la bourse copulatrice après l'accouplement atteint au minimum une dizaine de jours mais peut se prolonger plus longtemps si les circonstances sont favorables.

III. - FECONDATION.

En raison de la structure de l'organe copulateur, l'autofécondation est très exceptionnelle chez les Turbellariés où elle n'a été mise en évidence que chez le Protriclade Otomesostoma auditivum (von Hofsten, 1909 et 1911 ; Reisinger, 1958). Elle semble aussi très vraisemblable chez les

Turbellariés parasites du genre Fecampia (Dalyellioïdes). Chez les Triclades, bien étudiée à cet égard, l'autofécondation parait inexistante (von Gelei, 1924 ; Goetsch, 1925).

A. - OBSERVATIONS ANTERIEURES.

Chez Mesostomum ehrenbergi d'après Bresslau (1904), la fécondation a lieu au moment où l'ovocyte I qui est pondu passe au niveau du réceptacle séminal. Les observations réalisées par Patterson (1912) et Ball (1916) sur Paravortex gemellipara et par Hallez (1909) sur P. cardii montrent que la fécondation a également lieu au moment où se constitue la capsule ovigère.

Chez certaines espèces en revanche, on a signalé des cas de fécondation précoce se produisant lorsque l'ovocyte est encore dans l'ovaire et parfois même bien avant d'avoir terminé sa phase de grand accroissement. Ce cas parait relativement fréquent chez les Protriclades où il est connu depuis longtemps chez Otomesostoma auditivum (von Hofsten 1909, Reisinger 1958), puis a été signalé plus récemment par Giesa (1966) chez Monocelis fusca et Bothriomolus balticus.

Les seules indications concernant les Calyptorhynques précisent que la fécondation se réalise aussi dans l'ovaire chez Gyratrix hermaphroditus (Meixner, 1924) mais que les divisions de maturation et l'expulsion des globules polaires se produisent dans la capsule ovigère, ainsi que l'a observé et figuré Hallez (1879, pl.11), malheureusement sans grands détails.

B. - OBSERVATIONS PERSONNELLES SUR POLYCYSTIS NAGELII.

A la différence de ce qui se passe chez Gyratrix hermaphroditus, il parait vraisemblable que la fécondation n'a pas lieu dans le germigène chez Polycystis nägelii. En dépit d'un examen histologique portant sur un nombre relativement élevé d'individus en reproduction, je n'ai jamais eu l'occasion d'observer des spermatozoïdes au niveau des germigènes. Immédiatement après l'accouplement, l'atrium génital commun et le canal ovovitellin demeurent vides de spermatozoïdes. Ce n'est qu'au minimum quelques heures

plus tard, et surtout le jour suivant que l'on peut voir des paquets de spermatozoïdes dans l'atrium génital commun. Mais Karling (1956, p. 230 et 231, fig. 39) a signalé la présence de spermatozoïdes aussi dans le fond du canal ovovitellin dont ils provoquent même la dilatation ; l'auteur considère ce renflement comme une bourse femelle, sans préciser cependant si les spermatozoïdes se répandent ou non jusque dans le germigène. Même chez les individus dont l'atrium génital commun contient des spermatozoïdes, je n'ai pas observé un seul de ceux-ci dans le germigène qui est pourtant en communication directe avec l'atrium par un oviducte puis un canal ovovitellin, tous deux très courts et dépourvus d'obstacle anatomique. Il parait donc très vraisemblable que l'ovocyte ne peut être fécondé avant d'avoir quitté le germigène, du moins chez les individus des côtes de Bretagne.

D'autre part, au moment de la constitution du cocon dans l'utérus la fécondation est terminée et l'ovocyte a déjà entrepris sa première division de maturation. En conséquence, la fécondation chez cette espèce a certainement lieu soit au moment où l'ovocyte passe dans le canal ovovitellin (qui peut contenir des spermatozoïdes ainsi que l'a observé Karling), soit lorsqu'il traverse l'atrium génital commun avant de parvenir à l'utérus.

IV. - MATURATION DES OVOCYTES ET CARYOGAMIE.

L'étude de ces phénomènes dont l'intérêt sur le plan biologique est considérable, rencontre chez les Turbellariés un certain nombre de difficultés particulières. Tout d'abord comme on l'a vu précédemment, la fécondation qui déclenche habituellement la maturation de l'ovocyte a lieu selon les espèces soit dans le germigène, soit au moment du passage de l'ovocyte dans le canal ovovitellin ou l'atrium génital. En fait, si l'on met à part les Acoeles et les Macrostomides chez lesquels la maturation se déroule au moins partiellement dans l'ovaire, elle semble bien se produire d'une façon générale après la formation de la capsule ovigère ou du cocon et même souvent après la ponte. La rareté des pontes à un stade favorable, l'absence de tout critère permettant de le repérer

et enfin les grandes variations individuelles ou spécifiques dans le déroulement de ces phénomènes expliquent la pauvreté des documents bibliographiques concernant ces problèmes. Chez les Turbellariés à ponte ectolécithe, la présence d'une coque ovigère à paroi résistante soulève en outre un certain nombre de difficultés techniques.

A. - OBSERVATIONS ANTERIEURES.

L'étude de la maturation des ovocytes a été réalisée chez différents Triclades, en particulier chez Dendrocoelum lacteum par von Gelei (1913, 1921 et 1922) et par Bordas (1921), ainsi que chez plusieurs autres espèces par Benazzi et ses collaborateurs (cf. Benazzi, 1963).

Chez les autres groupes de Turbellariés Ectolécitophores, des difficultés d'élevage s'ajoutent aux précédentes, si bien que quelques rares espèces des genres Monocelis, Paravortex et Mesostomum ont pu être étudiées à cet égard.

Chez Mesostomum ehrenbergi, le noyau du spermatozoïde qui a pénétré dans le cytoplasme de l'ovocyte n'évolue pas en pronucleus mâle tant que le noyau du gamète femelle n'a pas achevé ses deux divisions de maturation. Ces dernières se déroulent à l'intérieur du cocon et aboutissent après l'expulsion de deux globules polaires, à la formation de gamètes haploïdes aussi bien chez la forme européenne à garniture chromosomique diploïde 2 n = 10 (Schneider, 1883 ; Bresslau, 1904) que chez la forme américaine à 2 n = 8 (Husted et Ruebush, 1940). De même chez Monocelis fusca où la fécondation a lieu dans l'ovaire, le noyau du spermatozoïde ne commence sa transformation en pronucleus mâle qu'après la maturation de l'ovocyte dans la capsule ovigère (Giesa, 1966).

Enfin chez les Calyptorhynques, Hallez (1879) signale avoir observé la maturation de l'ovocyte et l'expulsion des globules polaires de Gyratrix hermaphroditus et il en donne quelques dessins (l. c., pl.11, fig.3 à 6) malheureusement très schématiques et peu convaincants, surtout lorsque l'on sait que ces observations ont été réalisées in vivo au travers de la paroi de la coque ovigère. Dans l'un de ces dessins représentant une anaphase de première division de maturation, il figure sans en donner l'interprétation, trois bivalents métacentriques à chaque pôle du fuseau achro-

matique. Il semblerait donc que les Gyratrix hermaphroditus à 2 n = 6 chromosomes présentent une méiose normale, aussi bien dans la lignée ovogénétique que dans la lignée spermatogénétique. Il aurait été extrêmement intéressant de confirmer les observations précédentes mais je dois reconnaître n'avoir pas eu autant de chance que Hallez, tout d'abord parce que je n'ai jamais réussi à observer la méiose sur le vivant et ensuite parce que mes rares préparations contenant des figures méiotiques sont toutes à des stades dépourvus d'intérêt caryologique.

B. - OBSERVATIONS PERSONNELLES SUR POLYCYSTIS NAGELII (Fig. 7).

Au moment où il quitte le germigène, le gamète femelle est un ovocyte de premier ordre dont le noyau est bloqué en début de prophase. C'est à ce stade également que doit se produire la fécondation, immédiatement suivie de la maturation de l'ovocyte d'une part, et du gonflement du noyau spermatique d'autre part. Cette évolution simultanée est remarquable chez les Turbellariés où le noyau du spermatozoïde qui a pénétré dans le cytoplasme ovulaire ne subit habituellement aucune évolution avant la fin des divisions de maturation (Bresslau, 1904 ; Hallez, 1909 ; Ball, 1916).

Dès la métaphase de la première division de maturation, le noyau spermatique situé dans le cytoplasme périphérique de l'ovule a perdu sa structure filiforme et s'est transformé en une masse globuleuse de 5 µ de diamètre dont le contenu chromatique est dense et homogène à l'exception de quelques condensations particulièrement colorables. Le point de pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme ovulaire parait quelconque et le pronucleus mâle peut se rencontrer n'importe où dans le cytoplasme périphérique, sans que l'on puisse déceler une localisation préférentielle.

1 - Première division de maturation.

Arrivé au terme de sa croissance, l'ovocyte de premier ordre contenu dans le germigène mesure 40 à 50 µ de diamètre. Son noyau globuleux subsphérique ou ovoïde atteint alors près de 20 µ. Il est parfaitement délimité par une membrane nucléaire nette et son contenu parait optiquement vide, à l'exception des filaments chromosomiques isolés encore très ténus et moniliformes à chromomères bien distincts et du nucléole toujours très

gros à ce stade. Fréquemment, au stade leptotène ces noyaux prophasiques montrent un rassemblement des chromosomes au voisinage du nucléole dans un secteur privilégié de la caryolymphe et correspondent à un état synizesis. Dans le noyau des ovocytes les plus volumineux, il est possible d'observer par endroits un débuts d'appariement des filament chromosomiques et il parait donc vraisemblable que le blocage des gamètes femelles se fait au cours ou à la fin du stade leptotène.

Les stades les plus précoces observés au tout début de la formation du cocon correspondent à l'achèvement de la diacinèse ; le nucléole a disparu, la membrane nucléaire est en train de disparaître et les chromosomes ne constituent pas encore une plaque métaphasique nettement caractérisée. Etant donné ce que l'on sait de la formation du cocon, il est certain que la maturation de l'ovocyte débute aussitôt après la pénétration du spermatozoïde.

A la métaphase, l'ovocyte prend une forme ellipsoïde environ une fois et demi plus longue que large. Les chromosomes qui constituent la plaque métaphasique se rassemblent au centre de la cellule dans un plan équatorial passant par le grand axe de la cellule. Cette plaque métaphasique occupe une longueur correspondant au tiers ou au quart du grand axe, et les chromosomes très colorables et assez longs du moins pour certains d'entre eux présentent une structure en tétrade tout à fait typique. Le fuseau de maturation perpendiculaire à la plaque équatoriale, n'occupe pas encore toute la largeur de la cellule.

Les figures astériennes sont remarquablement belles et d'une taille considérable, comme cela a déjà été signalé chez plusieurs autres groupes de Turbellariés (Van der Stricht, 1896 a et b ; Francotte, 1897 et 1898 ; Klinckowström, 1897 ; Philips, 1936 ; Coestello, 1961 ; Newton, 1970). L'orientation du fuseau achromatique est totalement indépendante de la position du spermatozoïde qui peut se trouver indifféremment dans l'hémisphère végétatif ou dans l'hémisphère animal de l'oeuf.

A l'anaphase, le fuseau achromatique s'est allongé ; il s'étend maintenant à travers tout l'ovocyte et les deux asters viennent presque au con tact de la membrane cytoplasmique. A proximité d'un des deux asters on observe un aplatissement de la surface ovulaire qui tend à se déprimer de

plus en plus profondément vers le centre de la cellule durant la suite de l'anaphase, tandis que la face opposée devient progressivement plus convexe. Finalement, l'ovule qui s'est ainsi déformé devient réniforme et le fuseau achromatique occupe toute la largeur comprise entre la zone comprimée correspondant au hile et la face bombée qui lui est opposée. Autour de l'aster qui est situé à proximité de cette face bombée, une petite protubérance qui constituera le cytoplasme du futur globule polaire I, se forme déjà.

A la télophase, l'individualisation du globule polaire se poursuit. Il fait alors largement saillie en dehors du cytoplasme de l'ovule qui de son côté reprend une forme ellipsoïde à la fin de ce stade. Le premier globule polaire émis ne comporte qu'une masse cytoplasmique très réduite. Une fois isolé, il n'a plus que 5 µ de diamètre, ce qui représente moins d'un huitième à un dixième du diamètre moyen de l'ovocyte II. Sauf exception, ce globule polaire dégénère sur place et disparaît très rapidement sans subir la seconde division méiotique.

2 - <u>Seconde division de maturation</u>.

Il semble qu'il n'y ait pas d'intercinèse. En tout cas si elle existe, elle doit être d'une briéveté remarquable car je n'en ai retrouvé trace sur aucune de mes préparations.

Le déroulement de la mitose homéotypique est certainement beaucoup plus rapide que celui de la division hétérotypique. Les figures correspondant à cette seconde division de maturation sont en effet nettement plus rares. Elles permettent néanmoins d'en reconstituer les différentes étapes qui se déroulent d'une façon tout à fait classique.

Un certain nombre de détails caractéristiques distinguent cette mitose homéotypique de la division hétérotypique qui la précède, même en l'absence du premier globule polaire dont on a déjà souligné la disparition précoce. D'une part, le fuseau achromatique ne s'étend pas sur la totalité de la largeur de l'ovocyte mais seulement sur environ la moitié de celle-ci, de sorte que si l'un des deux asters se localise au voisinage de la membrane cytoplasmique de l'ovule, l'autre demeure dans la partie centrale du gamète femelle à cause du raccourcissement du fuseau. D'autre part, dès la fin de la prophase de cette seconde division de maturation, les chromosomes apparaissent très nettement moins épais et surtout plus courts que leurs

homologues de la division précédente, et ce caractère persiste en s'accentuant jusqu'à la fin de la télophase. Durant la prophase et la métaphase, les chromosomes présentent une structure en dyade.

Sur les plaques métaphasiques et même sur les figures d'anaphase et de télophase, il est relativement aisé de dénombrer les six chromosomes qui constituent la garniture de l'espèce.

Les asters sont aussi développés que lors de la première division de maturation et le fuseau de cette seconde division est perpendiculaire au plus grand axe de l'ovocyte. L'expulsion du second globule polaire se fait d'ailleurs à proximité immédiate de l'emplacement occupé par le premier. Ce globule polaire II est nettement plus volumineux que le globule I mais il dégénère tout aussi vite. Son noyau prend un aspect très nettement pycnotique, avant même l'achèvement de la première division de segmentation. De plus les mouvements imprimés par l'utérus au cocon alors en formation, contribuent pour beaucoup à la rapidité de la disparition des deux globules polaires. Si comme je l'ai réalisé à plusieurs reprises, des cocons inachevés sont extraits artificiellement du corps de leur parent sans être lésés et maintenus en élevage, il est possible de constater que les globules polaires persistent jusqu'au stade de deux ou trois blastomères.

3 - Evolution des pronuclei et caryogamie.

Durant toute la durée des phénomènes de maturation qui viennent d'être décrits, le noyau mâle persiste pratiquement sans évoluer dans le cytoplasme pariétal de l'ovule. Néanmoins, à la fin de la division homéotypique, j'ai constaté que l'auréole de cytoplasme qui l'entoure a tendance à s'élargir quelque peu, en même temps que le suc nucléaire parait devenir moins colorable. Un peu plus tard, ce noyau perd sa forme ovalaire et devient parfaitement sphérique. Il est limité par une membrane nucléaire très colorable, tandis que son contenu limpide et homogène se teinte seulement de gris très pâle par l'hématoxyline. Cet aspect précède de peu le gonflement du noyau mâle et sa transformation en pronucleus à contour lobé tout à fait remarquable ; durant cette évolution, il demeure immobile dans le cytoplasme périphérique de l'ovule.

Au moment où se constitue l'ovotide, le pronucleus femelle qui vient de se séparer du noyau du second globule polaire occupe une position très

excentrique. Tout en se rapprochant progressivement du centre de l'ovule, il s'accroit considérablement et lorsqu'il est parvenu au terme de sa migration, il a une forme et une structure analogues à celles du pronucleus mâle mais il paraît cependant un peu plus volumineux que ce dernier.

Lorsque le pronucleus femelle a terminé son accroissement, le pronucleus mâle vient le rejoindre au centre de l'ovule. Les deux pronuclei restent longtemps accolés l'un à l'autre, mais je n'ai observé aucune figure indiscutable de caryogamie. Comme cela a déjà été constaté à diverses reprises chez d'autre Turbellariés (Giesa, 1966), il est vraisemblable qu'il n'y a pas de noyau de fécondation chez P. nägelii, et que les chromosomes provenant des pronuclei mâle et femelle ne se rassemblent pas avant la formation de la plaque équatoriale de la première division de segmentation.

C. - OBSERVATIONS SUR LA PLACE DE LA MATURATION CHEZ LES CALYPTORHYNQUES.

L'examen des pontes de différentes espèces appartenant aux familles les plus représentatives des Calyptorhynques ne permet pas de généraliser les observations précédentes réalisées sur Polycystis nägelii.

Presque toujours, les capsules ovigères fraîchement pondues renferment des ovocytes dont la maturation n'est pas encore commencée et dont le noyau contient un volumineux nucléole. De telles constatations ont pu être faites chez divers Polycystidae : Gyratrix hermaphroditus (cf. Hallez, 1879, planche 11), Acrorhynchides robustus (Karling, 1931, p. 19), Gallorhynchus mediterraneus, Itaipusa karlingi (Mack - Fira, 1968, fig. 11) ; Cicerinidae : Cicerrina tetradactyla et Paracicerina maristoi ; Placorhynchidae : Placorhynchus octaculeatus (Karling, 1947, fig. 14 F) ; Gnathorhynchidae : Uncinorhynchus westbladi (Karling, 1952, fig. 11 C), Uncinorhynchus flavidus, Prognathorhynchus typhlus et Drepanorhynchides diodontus (L'Hardy, 1966, fig. 3, p. 421), Proschizorhynchus anophthalmus et P. pectinatus ; Karkinorhynchidae : Baltoplana magna.

Il est donc certain que la maturation ne commence pas avant la ponte chez la majorité des Calyptorhynques à la différence de ce qui se passe chez Polycystis nägelii où ces phénomènes débutent pendant la formation du cocon et se terminent bien avant que celui-ci soit pondu.

CHAPITRE III

FORMATION ET STRUCTURE DE LA PONTE.

L'élaboration de la capsule ovigère ou du cocon constitue l'une des particularités biologiques remarquables des Turbellariés et des Plathelminthes en général. Selon la distinction proposée par de Beauchamp (1961), la ponte à un ou deux embryons de la majorité des Calyptorhynques doit être considérée comme une capsule ovigère. Chez quelques espèces des genres *Polycystis*, *Macrorhynchus* et *Opisthocystis* il se forme cependant un cocon renfermant de huit à quinze embryons. En fait, il n'y a aucune différence dans la structure des capsules ovigères et celle des cocons ; leur formation est parfaitement identique.

Jusqu'au début du siècle, il était admis par tous les auteurs que l'élaboration de la coque ovigère était due aux glandes utérines qui sont en effet en plein cycle sécrétoire lorsque les parois de l'utérus sont dilatées par la future ponte (Schubmann, 1905) et cette opinion se retrouve encore dans certains traités récents (Kume et Dan, 1968, p. 129).

Plusieurs auteurs étudiant le développement des Trématodes Digéniens (Leuckart, 1863 ; Henneguy, 1902 et 1906 ; Goldschmidt, 1909) ont constaté en contradiction avec les observations de Schubmann, que la capsule ovigère se constitue dans l'utérus, à partir d'inclusions contenues dans le cytoplasme des cellules vitellines. Böhmig (1912), Burr (1912), Toedtmann (1913) et von Hofsten (1913) signalaient des phénomènes identiques chez de nombreuses espèces de Triclades, de Dalyellioïdes et de Typhloplanoïdes, tandis que Meixner (1923, 1924) les retrouvait également chez certains Calyptorhynques. Avant d'entreprendre la description des phénomènes aboutissant à la formation de la capsule ovigère, il n'est donc pas inutile d'examiner rapidement la façon dont se forment et se différencient les cellules vitellines ou vitellocytes.

I. - FONCTIONNEMENT DES VITELLOGENES.

A. - ANATOMIE MICROSCOPIQUE.

Sur coupes histologiques, les vitellogènes apparaissent formés par un massif cellulaire plus ou moins allongé sur les flancs de l'animal. Dans la région où s'insère le vitelloducte, il est possible de déceler une membrane très fine qui n'est certainement que la prolongation de la paroi du canal vitellin. Cette paroi emballe très vraisemblablement tout l'ensemble du vitellogène, bien qu'elle demeure invisible sans doute à cause de sa minceur et de la forme mammelonnée et irrégulière de l'organe. Il en résulte un contact très étroit entre les cellules vitellines et les tissus environnants, en particulier l'intestin sous jacent.

On distingue deux catégories bien tranchées de cellules vitellines qui se caractérisent surtout par l'aspect de leur cytoplasme : les plus nombreuses ont un cytoplasme chargé de volumineux globules réfringents pouvant atteindre 7 à 8 µ de diamètre ; les autres, 8 à 10 fois plus rares, ont un cytoplasme qui parait parfaitement homogène au microscope.

Les vitellocytes à "globules vitellins" de la première catégorie sont bien connus et ont déjà été décrits chez de très nombreux Turbellariés Ectolécithophores, Trématodes, Monogènes et Cestodes.

L'existence d'une seconde catégorie de cellules vitellines apparait en revanche comme un point beaucoup plus original et ne semble pas avoir été signalée jusqu'ici chez les Plathelminthes. Contrairement à ce qu'on pourrait penser, il ne s'agit pas de vitellocytes encore indifférenciés et dépourvus de globules vitellins.

B. - EVOLUTION DES CELLULES VITELLINES.

1 - La multiplication de vitellocytes.

D'une façon générale, les petites cellules vitellines sont plutôt situées à la périphérie du vitellogène et à ce stade, elles ne dépassent pas 15 µ dans leur plus grande dimension. Leur noyau sphérique atteint 8 µ et contient de nombreuses mottes de chromatine réparties régulièrement à

l'intérieur de la cavité nucléaire ainsi qu'un nucléole bien développé. Quant au cytoplasme bourré de granulations diffuses et nettement basophiles, il a déjà les caractéristiques des cellules vitellines.

Chez Polycystis nägelii, c'est à ce stade très précoce que se réalise la multuplication des vitellocytes. Durant la prophase, le noyau s'allonge et les filaments chromosomiques constituent un peloton très dense. Pendant la métaphase et l'anaphase, les chromosomes sont très volumineux et les plus grands d'entre eux peuvent atteindre 12 à 14 µ . En raison de la taille restreinte de la cellule, ils sont emmêlés les uns aux autres d'une façon souvent inextricable et leur décompte est très difficile, aussi bien sur coupes que sur écrasements colorés à l'orcéine. A plusieurs reprises cependant j'ai eu la possibilité d'en dénombrer 12 comme dans toutes les mitoses somatiques. Les figures de multiplication cellulaire apparaissent relativement rares, réparties à la périphérie du vitellogène et en particulier sur sa face dorsale.

Chez Polycystis nägelii, il n'y a pas de crises mitotiques périodiques analogues à celles du germigène et il semble bien que la production de nouvelles cellules vitellines se fasse régulièrement et en permanence, tout au moins en période de reproduction. En raison du nombre élevé de ces cellules, leur multiplication dépasse généralement les besoins immédiats de l'animal. Il existe donc des réserves importantes de petites cellules vitellines encore dépourvues de réserves, surtout localisées chez cette espèce aux deux extrémités de chaque vitellogène.

Les cellules vitellines demeurent indifférenciées tant qu'elles ne dépassent pas 20 à 25 µ de diamètre moyen.

2 - L'accroissement des vitellocytes à globules vitellins.

Au terme de leur accroissement, les cellules vitellines peuvent atteindre 40 à 50 µ de longueur sur plus de 50 µ de large. Le noyau sphérique de 15 µ de diamètre, à membrane nucléaire bien nette et à contenu clair, renferme un nucléole de 4 à 5 µ et quelques rares filaments courts de chromatine disposés le long de la membrane nucléaire. Le nucléole reste volumineux durant toute la phase d'accroissement mais il régresse à la fin de celle-ci. Le noyau des cellules contenues dans le vitelloducte renferme un nucléole de 2 µ seulement, peu colorable et qui vient souvent se coller

à la face interne de la membrane nucléaire, en même temps qu'apparaissent des condensations de chromatine dans le nucléoplasme.

Dans le cytoplasme, on note l'apparition et l'accumulation progressive des globules vitellins qui occupent à la fin de la différenciation un volume considérable qu'on peut estimer au tiers environ du volume cellulaire total.

3 - L'accroissement des vitellocytes à cytoplasme homogène.

Parvenus au terme de leur développement, les vitellocytes à cytoplasme homogène ont une taille comparable à celle des autres cellules vitellines. Le noyau central et ovoïde, possède une caryolymphe claire renfermant un volumineux nucléole et une chromatine rassemblée en quelques grosses mottes périphériques.

Les vitellocytes à contenu homogène se caractérisent aussi par leur cytoplasme éosinophile, alors que le cytoplasme des autres vitellocytes présente généralement des affinités beaucoup plus marquées pour les laques d'hématoxyline. Avec les fixateurs qui conservent les globules vitellins (formol neutre par exemple), les vitellocytes à cytoplasme homogène ont un aspect très finement granuleux.

II. - ETUDE DESCRIPTIVE DE LA FORMATION DE LA PONTE.

En raison de l'opacité relative de leurs tissus et de leurs vitellogènes en particulier, les Calyptorhynques se prêtent assez mal à l'étude de la formation de la capsule ovigère sur le vivant. A cet égard, *Gyratrix hermaphroditus* fournit toutefois un matériel très favorable en raison de sa transparence.

A. - CAPSULE OVIGERE DE *GYRATRIX HERMAPHRODITUS*.

1 - Formation de la paroi de la capsule.

La capsule de cette espèce renferme habituellement un ovule unique, exceptionnellement deux (Hallez, 1879). Les phases les plus précoces que j'ai pu examiner correspondaient au remplissage par la masse des cellules vitellines. L'ovule est alors refoulé tout au fond de l'utérus, très vrai-

semblablement parce qu'il est parmi les premières cellules à y pénétrer. Le remplissage par les cellules vitellines qui roulent les unes sur les autres, se fait rapidement et de façon continue jusqu'à ce que l'utérus qui a pris une forme ovoïde soit à peu près rempli. A ce moment là, le remplissage se ralentit sensiblement et s'arrête de temps à autre quelques instants. Pendant la durée de ces interruptions, les contractions de la paroi utérine brassent et compriment le magna de cellules vitellines. Puis de nouveau les cellules s'écoulent dans l'utérus ; il en pénètre encore un certain nombre, mais lorsque les contractions sont très intenses, quelques unes d'entre elles refluent dans le vitelloducte.

Peu de temps après les premières contractions, une membrane transparente apparait qui sépare la masse vitelline de l'utérus. Cette membrane qui demeure un certain temps très fine et très souple, représente l'ébauche de la paroi de la capsule et se prolonge un peu au-delà de l'orifice de l'utérus par une sorte de manchon. Ce dernier est largement ouvert pendant l'entrée des cellules vitellines mais lorsque les contractions utérines se produisent, il se replie en écrasant les cellules qui remplissent le canal ovovitellin. Les cellules vitellines qui au début de la phase de remplissage ont une forme ovoïde ou presque sphérique, sont peu à peu comprimées et tassées à la fois par les contractions de l'utérus et l'arrivée de nouvelles cellules vitellines. Celles-ci pénètrent de plus en plus difficilement, mais ce n'est que lorsque les parois de l'utérus sont parfaitement distendues par le cocon en formation que prend fin l'accumulation des réserves vitellines.

Durant ces phases de contractions, les globules vitellins se rassemblent à la périphérie des vitellocytes où ils fusionnent en masses irrégulières de taille variable. Le contenu des globules est finalement expulsé du cytoplasme des cellules vitellines entre lesquelles il s'insinue avant de parvenir sous l'épithélium utérin. Le matériel des globules vitellins se fusionne en une lame souple d'abord mince, s'épaississant ensuite par l'arrivée de nouveaux globules qui s'étalent en se soudant à la paroi encore visqueuse de la capsule. A ce stade, le cytoplasme des vitellocytes est parsemé de vacuoles volumineuses correspondant à l'emplacement des globules vitellins qui s'en sont échappés.

L'accumulation des cellules vitellines dans l'utérus ne demande pas plus de 20 à 30 minutes, mais le pétrissage se prolonge pendant une à deux heures. A la fin de cette période, les contractions de l'utérus sont plus rares et perdent beaucoup de leur intensité, si bien que le brassage des cellules vitellines se ralentit. La paroi de la capsule a acquis son épaisseur définitive mais demeure encore extrêmement souple et déformable. Au niveau de l'orifice de l'utérus, la capsule s'obture par un épaississement localisé qui apparaît comme une sorte de virole réfringente. Le ralentissement puis l'arrêt des contractions utérines permet à la capsule de prendre sa forme régulière, pendant que son contenu se modifie : les cellules vitellines deviennent régulièrement polygonales et leur cytoplasme prend un aspect homogène.

Peu à peu, les membranes cellulaires des vitellocytes s'estompent et disparaissent. En même temps l'ovule localisé jusqu'alors à la périphérie de la capsule à l'opposé du point d'insertion du pédoncule, s'enfonce vers le centre de la capsule où il s'immobilise au milieu du magna vitellin dont les membranes cellulaires sont alors indistinctes.

Ce n'est que six ou sept heures après le début de sa formation que la coque ovigère prend une coloration jaune verdâtre. En même temps, elle se décolle des parois de l'utérus auxquelles elle adhérait fortement jusque là. Après une dizaine d'heures, la coque se colore en jaune d'or puis orangé, tandis qu'apparaît le pédoncule dans le canal qui relie l'utérus à l'atrium génital commun.

2 - <u>Formation du pédoncule de la capsule</u>.

Comme l'a déjà vu Meixner (1923, 1924), le "pédoncule" de la capsule ovigère de <u>G. hermaphroditus</u> est constitué par le produit de sécrétion des glandes utérines, qui s'accumule dans le canal de l'utérus dont il distend peu à peu les parois.

Cette sécrétion demeure visqueuse jusqu'à la ponte et c'est grâce à elle que le cocon peut être fixé sur un substrat convenable. La ponte survient habituellement 12 à 24 heures après le début de la formation de la capsule, mais j'ai pu remarquer qu'elle peut avoir lieu exceptionnellement beaucoup plus tôt, dès la septième ou la huitième heure. Il est d'ailleurs intéressant de constater que dans ce cas la coque est encore très molle et peu colorée ; elle durcit par la suite ce qui met en évidence le fait

que les substances indispensables à ce phénomène sont contenues dans la capsule et non dans les glandes utérines. Des capsules extraites expérimentalement du parent peu de temps après leur formation permettent de confirmer en tout point l'observation précédente.

En définitive, la capsule ovigère de Gyratrix hermaphroditus qui est à peu près piriforme mais plus ou moins aplatie sur le côté faisant face au substrat, mesure de 180 à 275 µ sur 120 à 190, mais la majorité des capsules ont une longueur comprise entre 200 et 250 µ et une largeur de 130 à 150 µ. Le filament pédonculaire sécrété par les glandes utérines est plein, cylindrique, recourbé et ne dépasse pas 30 à 60 µ de long sur 20 à 30 µ de large. De forme variable et souvent ornée de perforations, la plaque qui assure l'adhérence sur le substrat peut atteindre une centaine de microns de diamètre. En raison de sa minceur, cette plaque basale est transparente à la différence du pédoncule et des parois de la capsule qui sont colorés en jaune orangé. La capsule renferme une masse de 50 à 80 cellules vitellines et un seul ovocyte ou très rarement deux (Hallez, 1879 ; Reuter, 1961).

B. - CAPSULE OVIGERE D'ACRORHYNCHIDES ROBUSTUS.

Cette espèce est moins favorable que la précédente en raison du développement important des vitellogènes dont l'opacité masque souvent les phénomènes. Il a été possible cependant d'y retrouver les principales étapes de la formation de la capsule : remplissage de la cavité utérine par les cellules vitellines qui suivent les ovocytes ici au nombre de deux ; formation de la paroi et brassage énergique du contenu de la capsule ovigère dont la paroi durcit en prenant une coloration orange à brun rouge et le durcissement de la coque ovigère ; sécrétion par les glandes utérines d'une gouttelette réfringente servant à fixer la capsule.

Chez cette espèce le pédoncule de la capsule se forme d'une façon différente de celui de G. hermaphroditus. Lorsqu'elle est encore très fluide, la substance des globules vitellins pénètre partiellement dans le canal de l'utérus, de sorte que la paroi et le pédoncule de la capsule ovigère sont d'un seul tenant et façonnés simultanément à partir du même matériel.

La sécrétion des glandes utérines est bien moins abondante que chez G. hermaphroditus et se produit aussi plus tardivement, juste avant le dépôt de la capsule. Il se forme seulement une gouttelette qui enveloppe la partie basale du pédoncule et en assure l'adhérence au substrat.

La capsule achevée est presque sphérique (220 - 250 µ x 200 - 230 µ) ou exceptionnellement plus allongée (250 µ x 160 µ, par exemple). L'épaisseur de la paroi varie de 2,5 à 3 µ selon les capsules. Le pédoncule grêle, recourbé, beaucoup moins opaque que la paroi, mesure 50 µ de long sur 6 à 7 µ de large et se termine par une sorte de disque aplati mesurant 50 à 60 µ de diamètre et inclu dans la sécrétion transparente qui le fixe au substrat. En plus des deux ovocytes situés de part et d'autre du plan équatorial, on peut dénombrer dans la capsule 120 à 150 cellules vitellines serrées les unes contre les autres et à contour polygonal.

C. - COCON DE POLYCYSTIS NAGELII.

La pigmentation du parenchyme, le volume important du cocon et l'opacité du vitellus se sont opposés à l'étude des premières étapes de la formation du cocon. En revanche, l'abondance du matériel a permis d'entreprendre une étude histologique des phénomènes qui aboutissent à l'élaboration puis au durcissement de la coque ovigère.

Il faut rappeler que dans les vitellogènes ou dans les vitelloductes, les dimensions des cellules vitellines sont comprises entre 40 et 50 µ de long sur 25 à 30 µ de large et que leur noyau atteint alors 12 à 15 µ de diamètre. Leur cytoplasme homogène est chargé de très fines granulations basophiles tandis que leur noyau limité par une membrane nucléaire assez épaisse possède un contenu clair à l'exception de quelques filaments de chromatine et d'un nucléole plus ou moins volumineux.

Examinées dans un cocon en formation, ces mêmes cellules présentent des caractères très particuliers. Tout d'abord, leur taille est réduite dans des proportions notables : celles qui sont isodiamétriques n'ont pas plus de 25 µ de diamètre et les autres ne dépassent pas 30 µ x 20 µ. De plus, leur forme polygonale témoigne des pressions qu'elles exercent les unes sur les autres.

Simultanément, le noyau change de forme et devient polygonal. Sa taille se réduit à 5-7 µ et son contenu se colore de plus en plus intensément par l'hématoxyline. En revanche, le nucléole perd sa colorabilité et avant de disparaître complètement apparaît comme une petite vésicule claire au milieu du nucléoplasme très dense.

Le cytoplasme est lui-même le siège de quelques remaniements importants. Dans les plus jeunes cocons dont la paroi est encore inachevée et très mince, le cytoplasme des cellules vitellines renferme une quantité considérable d'inclusions réfringentes qui ne sont pas autre chose que le matériel des globules vitellins. Ces inclusions dispersées jusqu'alors d'une façon homogène dans tout le cytoplasme, migrent vers la membrane cellulaire et s'agglomèrent les unes aux autres en constituant des gouttelettes réfringentes jaune verdâtres de plus en plus volumineuses, arrondies ou ellipsoïdes, parfois anguleuses lorsqu'elles sont particulièrement grandes. Il est intéressant de remarquer que ces inclusions n'apparaissent jamais dans le vitellus encore contenu dans le vitellogène ou le canal ovo-vitellin, ainsi que l'a observé von Hofsten (1912) chez deux espèces de Dalyellia. Finalement, tous ces produits de sécrétion rassemblés à la périphérie des cellules vitellines, s'échappent dans les espaces intercellulaires puis vont tapisser l'épithélium interne de l'utérus en une couche régulière qui s'épaissit au fur et à mesure par l'arrivée de nouvelles gouttelettes.

Il est certain que les contractions utérines jouent un rôle important dans l'expulsion et la répartition de ces gouttelettes, ainsi que dans leur fusion ultérieure qui aboutit à la constitution de la paroi du cocon. Celle-ci est encore mince et souple à ce stade, mais l'accumulation continue de nouvelles quantités de produits de sécrétion l'épaissit progressivement jusqu'à ce qu'elle atteigne sa taille définitive qui est de l'ordre de 2,5 à 4 µ. La partie interne de la paroi présente parfois un aspect plus ou moins nettement feuilleté, dû vraisemblablement à la fusion incomplète des gouttelettes de sécrétion. Celles-ci peuvent également persister parmi les cellules vitellines ou même dans leur cytoplasme durant tout le développement embryonnaire qui cependant n'est pas perturbé.

Chez P. nagelii, la formation et l'accroissement en épaisseur de la coque demande plusieurs heures (en moyenne 4 à 6) et la durée du durcisse-

ment, 12 à 24 heures. Ces temps sont valables pour des animaux placés à des températures de l'ordre de 15 à 18° C. A 10 - 12° C, les phénomènes sont considérablement ralentis et durent alors plusieurs jours.

Après l'élaboration de la paroi du cocon, les cellules vitellines ont un aspect vacuolaire qui n'est pas sans rappeler celui des cellules vitellines de Dicrocoelium lanceolatum observées dans les mêmes conditions (von Hofsten, 1912, p. 127, fig. 15) ; simultanément, leur cytoplasme perd son affinité pour les laques d'hématoxyline.

Le pédoncule de la coque ovigère se forme de la même manière que celui d'Acrorhynchides robustus.

Lorsqu'il est pondu, le cocon de P. nägelii est à peu près régulièrement piriforme et très souvent presque sphérique. Son diamètre moyen est compris entre 450 et 550 µ mais peut atteindre jusqu'à 650 µ. Les individus de petite taille fournissent fréquemment des cocons moins volumineux.

Le pédoncule robuste et droit est en continuité avec la paroi de la capsule et mesure 35 à 80 µ de longueur sur 10 à 15 µ de diamètre moyen. Il est plein et son diamètre est à peu près constant sur toute sa longueur sauf à son extrémité distale où il s'élargit en formant une plaque basale arrondie d'environ 50 µ de diamètre.

Le produit de sécrétion des glandes utérines qui fixe le cocon au substrat est suffisamment important pour envelopper toute la base du pédoncule du cocon. La sécrétion utérine reste parfaitement incolore après son durcissement alors que la coque ovigère et le pédoncule prennent une coloration uniforme jaune orangée ou brunâtre.

Le nombre des ovocytes contenus dans le cocon oscille habituellement entre 8 et 12, mais peut atteindre 16. Les jeunes individus ou les animaux mal nourris en élevage produisent des cocons de taille plus réduite qui peuvent ne renfermer qu'un ou deux embryons seulement.

III. - DONNES HISTOCHIMIQUES SUR L'ELABORATION ET LE DURCISSEMENT DE LA COQUE OVIGERE.

A. - HISTORIQUE.

Le brunissement de la capsule ovigère dans les heures qui suivent sa formation constitue un argument important en faveur de l'hypothèse d'un durcissement par tannage quinonique dont les modalités demandent cependant à être précisées.

Les premiers travaux consacrés au problème de la formation de la capsule ovigère des Plathelminthes sont dus à Vialli et signalent dans différents groupes et en particulier chez les Triclades (1933) et chez les Polyclades (1934), l'existence de composés phénoliques dans les "globules vitellins" du cytoplasme des vitellocytes. Ces observations sur les Polyclades ont été depuis lors confirmées par les études de Valcurone (1953).

L'existence de polyphénoloxydases indispensables à l'oxydation des composés phénoliques en quinones responsables du tannage des protéines a pu être mise en évidence chez un Turbellarié Dalyellioïde indéterminé parasite d'Holothurie (Arvy, 1957). Enfin les modalités du tannage quinonique ont été envisagées d'une façon plus précise par Smyth (1954) et Nurse (1950) chez les Triclades Paludicoles.

Mais si le nombre de cas étudiés chez les Turbellariés reste faible et pratiquement limité aux Triclades, les recherches ont été beaucoup plus intensives chez les Plathelminthes parasites. Dans une longue suite de publications, Smyth et ses collaborateurs après avoir mis au point des techniques souvent originales (Smyth, 1951 a et b ; 1954 ; Johri et Smyth, 1955) se sont consacrés à une étude comparative de la formation du cocon chez les Cestodes, les Digènes et les Monogènes (Smyth, 1956 ; Johri 1957 ; Smyth et Clegg, 1959).

Il ne faudrait cependant pas conclure à la suite de cette énumération que de tels phénomènes de tannage quinonique sont particuliers aux Plathelminthes. Des exemples nombreux ont été relevés dans un grand nombre d'autres phylums : cuticule d'Ascaris, soies d'Allobophora (Oligochète), d'Aphrodite et de Sabellaria (Polychètes), tube de Sabellaria (Polychète),

byssus de la moule, tégument des Insectes et de la Limule, oothèque de la Blatte et enfin coque ovigère des Sélaciens. Mis à part ce dernier exemple qui est le seul chez les Vertébrés, la formation de ce type de scléroprotéine est largement répandue dans les différents groupes d'Invertébrés, comme l'ont déjà souligné Brown (1940) et Denell (1949).

Selon le travail de Pryor (1940) consacré à la formation de l'oothèque chez la Blatte, des formations glandulaires indépendantes sécrètent séparément un polyphénol, une phénolase et des protéines qui s'associent pour former la paroi de l'oothèque dont le durcissement est dû à des liaisons de covalence qui s'établissent entre deux radicaux aminés des protéines et la molécule quinonique résultant de l'oxydation du polyphénol par la phénoloxydase. C'est ce type de scléroprotéine particulier que Pryor (l. c.) a proposé de nommer sclérotine.

Cependant Hackmann (1953) étudiant la formation de la cuticule des Insectes notait que la présence d'un polyphénol libre n'est pas indispensable puisque des protéines à radicaux phénoliques (tyrosine) peuvent être transformées directement en sclérotine après oxydation sur place par la phénoloxydase des radicaux phénoliques en radicaux quinoniques. Smyth (1954) a proposé de distinguer ce processus particulier de la formation de la sclérotine sous le nom "d'autotannage quinonique".

D'après Smyth et ses collaborateurs, les divers produits précurseurs de la sclérotine se rencontrent chez les Monogènes, les Digènes et les Cestodes Pseudophyllidiens, à l'intérieur des globules vitellins dispersés dans le cytoplasme des vitellocytes. Dans certains cas comme chez le Cestode *Schistocephalus solidus*, les globules vitellins n'ont pas une structure homogène mais contiennent des enclaves plus ou moins nettement distinctes suivant le type de fixateur employé.

B. MATERIEL.

En raison de son abondance et de la facilité avec laquelle on obtient en élevage des individus ovigères, *Polycystis nägelii* constitue un matériel de choix pour une étude de ce genre. Les exemplaires contenant un cocon en formation ont été fixés au Bouin froid à 4° C ou au formol neutre salé, inclus dans la paraffine et débités en coupes longitudinales de 5 µ d'épais-

seur. Il est ainsi possible de préciser sur la même préparation la nature des inclusions cytoplasmiques des cellules vitellines, à la fois dans les vitellogènes et dans la capsule en formation. A cause de sa pigmentation, P. nägelii se prête moins bien aux colorations in toto pour lesquelles il convient de choisir les individus les moins sombres.

La fixation par le Bouin provoque la disparition des "globules vitellins" qui jouent un rôle prépondérant sinon exclusif dans la formation de la capsule ovigère. L'étude précise des globules vitellins a donc été conduite à partir de fixations au formol neutre salé suivies d'une inclusion normale à la paraffine et dans certains cas, à partir des animaux vivants plongés entièrement dans le réactif puis éclaircis et montés in toto. Cette dernière méthode donne d'excellents résultats avec certaines espèces assez transparentes. Après fixation au formol salé, les globules vitellins ont, sur coupes, un aspect réfringent et une coloration verdâtre pâle ; ils prennent très mal les différents colorants, comme d'ailleurs la paroi des capsules en cours de formation. Il est donc indispensable de recourir au "blanchiment" préalable des préparations pour obtenir une coloration des globules vitellins ou de la paroi de la coque ovigère. En dépit de sa réputation très destructrice (Gabe), c'est le diaphanol qui m'a donné les meilleurs résultats.

C. - HISTOCHIMIE DES CELLULES VITELLINES DE POLYCYSTIS NAGELII.

Comme chez tous les Plathelminthes à ponte ectolécithe, les vitellocytes ont un double rôle : d'une part celui d'accumuler les réserves trophiques utilisées pendant le développement de l'embryon et d'autre part, celui de constituer une coque ovigère protégeant la ponte.

L'étude histochimique et le rôle des deux catégories de vitellocytes seront envisagés successivement.

1 - Les vitellocytes à globules vitellins.

a - Recherche des polysaccharides.

Etant donné la présence vraisemblable de glycogène dans les produits de réserve des vitellocytes, j'ai été amené à rechercher les polysaccharides par la méthode générale de Hotckiss-Mc Manus. Après coloration

par l'acide périodique-Schiff, le cytoplasme des vitellocytes à globules vitellins prend une teinte pourpre mauve significative.

Après blocage au dimédon, la réaction reste positive mettant donc en évidence la présence de glycogène dans ces cellules. Après action de l'amylase, ces vitellocytes ne se colorent plus du tout par l'A. P. S., ce qui confirme que leur polysaccharide est bien du glycogène. Sur coupes de matériel fixé au formol neutre salé, on constate que le glycogène est réparti dans le cytoplasme en dehors des globules vitellins.

b - Recherche des protéines.

α) Méthodes générales.

La présence d'amino-acides a été mise en évidence par la technique à l'alloxane-Schiff qui ne colore les cellules vitellines qu'en rose pâle. La réaction à la ninhydrine-Schiff, réalisée à titre de contrôle, donne un résultat beaucoup plus net qui confirme donc la réaction précédente.

La réaction au bleu de bromophénol mercurique (Mazia et al.) ou en solution aqueuse selon le protocole préconisé par Smyth pour la recherche des "protéines basiques" du cocon des Helminthes, fournit des résultats concordants avec ceux obtenus précédemment. Cette technique utilisée après fixation au formol neutre salé permet de déceler la présence des protéines dans les globules vitellins aussi bien que dans le cytoplasme qui les entoure.

β) Protéines à groupements sulfhydrilés.

La réaction de Chevremont et Frédéricq fondée sur le principe d'une réduction des sels ferriques, colore le cytoplasme des cellules vitellines en bleu vert. Cependant, le contrôle par blocage des fonctions SH n'atténue pas sensiblement la coloration observée. D'autre part, le blocage préalable de la réaction par le chlorure mercurique à 5% pendant dix heures, réalisé à titre de contre épreuve, ne détermine pas une décoloration sensible par rapport aux coupes témoins. De toute évidence, les résultats positifs ne sont pas dus uniquement à la présence de composés sulfhydrilés mais à d'autres groupements réducteurs et en particulier aux composés phénoliques également connus pour fournir une réponse positive à cette réaction (Lison)

La réaction de Barnett et Seligman au disulfur de 2 - 2 dihydroxy-6 - 6' dinaphtyle (D. D. D.) qui ne met pas en jeu le caractère réducteur des groupements sulfhydrilés mais agit par esthérification de leurs radicaux thiols, donne un résultat positif avec les cellules des vitellogènes, sauf après blocage au Lugol qui réalisé à titre de contre épreuve, annule la réaction ou la rend imperceptible. Cependant, l'utilisation dans cette technique d'un diazoïque susceptible de réagir avec les composés phénoliques présents dans le cytoplasme des vitellocytes ne permet pas d'affirmer la présence de protéines à radicaux sulfhydrilés. En effet, le contrôle par la diazotation simple fournit au niveau des cellules vitellines une coloration mauve ou pourpre, plus pâle que celle observée sur les coupes traitées par le D.D.D. mais néanmoins suffisamment nette pour en rendre l'interprétation discutable.

Dans ces conditions, il a été nécessaire de recourir à la coloration par le Red Sulfhydryl Reagent (R. S. R.) réagissant sur les radicaux thiols par la formation de mercaptides et ne présentant pas de ce fait les difficultés d'interprétation des deux réactions précédentes. La réussite sans équivoque de la coloration au R. S. R. permet d'affirmer l'existence de protéines à radicaux sulfhydrilés dans le cytoplasme des cellules vitellines. Sur les fixations au formol neutre salé, la coloration intéresse à la fois le cytoplasme proprement dit et les globules vitellins.

γ) Protéines à radicaux aromatiques.

La réaction xanthoprotéique qui est la méthode générale de détection de ces protéines n'a donné aucun résultat positif, ni sur coupes histologiques, ni sur préparations in toto. Etant donné le caractère très destructeur de cette réaction et sa réussite parfois aléatoire, j'ai tout de même entrepris la recherche des protéines à radicaux indol et pyrrol.

La méthode à la benzidine tétrazotée pratiquée selon la technique originale (cf. Pearse, 1953, p. 415) et qui est également caractéristique des protéines à radicaux aromatiques (Gabe, Ganther et Jollès) fournit un résultat très nettement positif au niveau des cellules vitellines.

Avec la réaction de Millon, j'ai observé au niveau des petites cellules vitellines n'ayant pas encore commencé leur accroissement, une coloration rose pâle indicatrice de la présence de tyrosine. Dans les cellules

en cours ou en fin d'accroissement, la réaction s'estompe et devient très rapidement indécelable. Le test de Morrel et Sisley également très caractéristique de la tyrosine donne un résultat négatif qui confirme donc l'absence de protéines à radicaux phénoliques.

En raison de la possibilité d'un autotannage des protéines des globules vitellins, j'ai essayé mais toujours sans succès, d'y mettre en évidence la tyrosine par les deux techniques précédentes, appliquées sur coupes de matériel formolé. Il existe donc peut-être de la tyrosine dans les cellules vitellines encore indifférenciées mais elle disparaît au cours de l'accroissement des vitellocytes. La réaction de Glenner à la diméthylaminobenzaldéhyde, très caractéristique du tryptophane et plus particulèrement du radical pyrrolique, fournit un résultat positif très net en colorant en bleu franc et soutenu tout l'ensemble du vitellogène. En raison du caractère hautement spécifique de cette réaction et de sa réussite indiscutable, on doit retenir la présence de tryptophane dans les cellules vitellines.

δ) Autres acides aminés.

Leur détection a été poursuivie soit par la méthode à la benzidine tétrazotée précédée dans chaque cas d'un blocage spécifique d'un ou de plusieurs aminoacides particuliers. Pour la mise en évidence directe de l'arginine, la technique de Sakaguchi a également été utilisée.

A part le test de Sakaguchi qui donne au cytoplasme des cellules vitellines une coloration rose assez nette indicatrice de la présence d'arginine, les résultats obtenus ont été constamment négatifs.

ε) Nucléoprotéines.

La réaction d'Unna-Pappenheim au vert de Méthyl-Pyronine colore intensément le cytoplasme des cellules vitellines en rouge vif. La digestion par la ribonucléase ou l'hydrolyse chlorhydrique préalable annihilent complètement la réaction qui est donc incontestablement due à la présence d'A. R. N.

ζ) Conclusion à l'étude des protéines.

En définitive, les vitellocytes à globules vitellins renferment donc des protéines à radicaux sulfhydrilés, pyrroliques et guanidyls ainsi que de grandes quantités d'acide ribonucléique. Toutes ces substances sont localisées dans le cytoplasme cellulaire. Les seules protéines présentes

avec certitude dans les globules vitellins sont des protéines à radicaux sulfhydrilés ; la recherche de la tyrosine y est constamment demeurée négative ce qui exclut par conséquent toute possibilité d'un "autotannage quinonique" (Smyth) de cette protéine.

c - Recherche des lipides.

La recherche des lipides a été effectuée surtout à titre de contrôle, afin d'éviter les confusions possibles avec les composés phénoliques qui possèdent également des propriétés réductrices. La coloration des pièces formolées par le noir Soudan met en évidence de petits globules lipidiques d'environ 1 µ de diamètre, dans les cellules du vitellogène. L'extraction préalable par la pyridine abolit la réaction et confirme la nature lipidique de ces granulations.

d - Recherche des composés phénoliques.

α) Méthode générale.

La mise en évidence des produits phénoliques a été réalisée par diazoréaction d'une solution de Fast Red Salt B à pH 7,2. Chez *Polycystis nägelii*, soit après fixation au formol neutre salé, soit par immersion des animaux vivants dans le réactif, on obtient une réaction positive très nette au niveau des globules vitellins.

β) Méthodes particulières aux diphénols.

La réaction argentaffine constitue une technique de choix pour la mise en évidence des composés di- ou polyphénoliques. Cette réaction pratiquée selon le protocole classique de Masson mais sans virage au chlorure d'or, fournit une coloration noire très précise et élective des globules vitellins. En raison de la spécificité peu élevée de cette réaction qui donne des résultats positifs avec de nombreuses substances réductrices, il convenait de la contrôler par d'autres afin de confirmer les résultats obtenus.

La réaction chromaffine a été pratiquée après fixation des pièces par un fixateur au bichromate de potassium (Regaud) suivie d'une postchromisation. Après montage, les sphérules vitellins apparaissent colorés en brun sombre.

La méthode de Coujard par fixation dans une solution d'iodate de potassium a fourni également un résultat positif, ce qui permet d'affirmer qu'il s'agit bien d'une véritable réaction chromaffine et non d'une réaction "pseudochromaffine". D'après Lison, la réaction chromaffine est caractéristique des di- et polyphénols.

La réaction de Mulan a été réalisée par immersion des animaux vivants ou fixés au formol neutre salé, dans une solution de tétroxyde d'osmium. Les sphérules phénoliques des cellules vitellines prennent alors une coloration gris soutenu ou brunâtre. Pour éviter toute confusion possible avec les lipides osmiophiles, un certain nombre d'exemplaires ont subi préalablement une extraction lipidique par la pyridine à chaud pendant 12 heures ce qui n'empêche pas la réaction de se produire et permet donc d'affirmer qu'elle est bien due à des corps phénoliques. D'ailleurs, la recherche des lipides par la méthode générale au noir Soudan permet de déceler leur présence dans les cellules vitellogènes où ils apparaissent sous forme de granulations très fines, bien distinctes des gros sphérules phénoliques. Pour Chevremont, la réussite de la réaction de Mulan caractérise les diphénols.

La réaction au molybdate d'ammonium acétifié pratiquée par immersion de l'animal vivant, fournit aussi des résultats positifs au niveau des vitellogènes.

Enfin, la réaction au perchlorure de fer a été réalisée sur animaux entiers et vivants ou sur coupes à la paraffine de pièces formolées. Comme chez les autres Helminthes, la réaction est pratiquement imperceptible sur les coupes et nécessite un traitement par la potasse (Smyth, 1954) pour faire apparaître une teinte rougeâtre visible. En revanche, si les animaux sont plongés vivants et maintenus quelques heures dans le réactif, des globules à polyphénols sont mis en évidence dans les vitellogènes. Ils sont brun verdâtres et nettement distincts du reste du corps qui est transparent ou légèrement jaunâtre lorsque la concentration en perchlorure de fer est trop importante. De même que la précédente et en dépit de sa réussite aléatoire qui la fait condamner par la plupart des histochimistes, cette réaction est considérée comme hautement spécifique des seuls orthodiphénols.

γ) Conclusion.

L'ensemble des réactions précédentes permet d'affirmer que les cellules des glandes vitellines renferment dans leurs globules vitellins,

un diphénol et même plus précisément un orthodiphénol qui n'est pas lié comme on l'a vu plus haut, aux protéines de ces globules.

e - Recherche des phénoloxydases.

α) Mise en évidence.

L'étude histoenzymatique de Polycystis nägelii a été conduite initialement selon la méthode préconisée par Smyth pour les Plathelminthes parasites : fixation à l'alcool à 70° puis mise en incubation à la température de 45° C dans une solution aqueuse de catéchol à 2 pour 1000. En fait, les pièces incubées à la température du laboratoire (15 - 18° C) se colorent aussi rapidement et intensément. La température d'incubation ne semble pas avoir une importance considérable sur le résultat de la réaction du moins dans les limites indiquées. L'examen des pièces montées in toto permet d'observer des sphérules bruns volumineux localisés dans les cellules des vitellogènes. Le caractère enzymatique de la réaction est clairement mis en évidence par le fait que les pièces préalablement ébouillantées à 100° C ne se colorent pratiquement plus lorsqu'elles sont placées dans la solution d'incubation. Après seulement 10 à 15 secondes à la température de 100°C, l'inhibition de la réaction est complète.

D'autre part, la recherche des peroxydases effectuée sur des animaux vivants selon la technique à la benzidine de Prenant n'a fourni aucun résultat positif au niveau des cellules des vitellogènes et des glandes utérines. Ces organes ne bleuissent pas non plus après la G Nadiréaction effectuée également sur matériel frais et selon la mathode de Mogg.

De plus, le brunissement des globules vitellins est totalement inhibé par l'addition d'un chélateur du cuivre tel que le diéthyldithiocarbamate de sodium à 1 pour 1000, à la solution de catéchol servant de milieu d'incubation. Ce résultat indique sans ambiguité que l'enzyme étudiée se rattache au groupe des oxydases cuivriques.

β) Spécificité de l'enzyme.

Il est intéressant dans ces conditions, d'essayer de préciser la spécificité de cette oxydase cuivrique en étudiant son action sur différents substrats. Les milieux d'incubation ont été fournis par les solutions aqueuses à 2 pour 1000 des substances suivantes :

catéchol, dihydroxyphénylalanine, pyrogallol, hydroquinone, phénol, gaïacol, vanilline et p-crésol.

Chez Polycystis nägelii, le catéchol, la dihydroxyphénylalanine et le pyrogallol qui sont tous trois des orthodiphénols ont donné un résultat positif au niveau des vitellogènes. Mais avec l'hydroquinone qui est un paradiphénol, la réaction de brunissement n'a pas lieu. L'enzyme contenue dans les globules vitellins est donc extrêmement spécifique : c'est une orthodiphénoloxydase c'est-à-dire une catécholase.

La recherche de la tyrosinase pratiquée selon la technique de Fitzpatrick après fixation formolée est restée négative.

γ) Conclusion.

L'existence de la catécholase dans toute la masse des globules vitellins pourrait faire supposer qu'il existe deux types de globules, les uns contenant les composés phénoliques et les autres l'enzyme. Sur plusieurs préparations, un certain nombre de vitellocytes ont été soigneusement repérés et tous leurs globules colorés par incubation dans le catéchol ont été dessinés à la chambre claire. Après démontage, ces mêmes préparations ont subi la réaction argentaffine qui met en évidence les globules à composés phénoliques. Les repérages précédents ont permis de constater que ces derniers globules corespondent très exactement à ceux qui renferment l'enzyme. Il est donc certain que l'enzyme et les radicaux phénoliques sont simultanément présents dans chaque globule vitellin.

En adaptant les techniques utilisées par Tramezzani, Chiocchio et Wassermann (1964), il serait intéressant d'entreprendre l'étude ultrastructurale des globules vitellins qui apporterait sans doute des précisions importantes sur la localisation des différentes substances au sein de ces globules ainsi que sur les modalités de leur élaboration.

f - Conclusion : modalités histochimiques de la formation et du durcissement du cocon chez Polycystis nägelii.

Les cellules à globules vitellins de Polycystis nägelii renferment comme les cellules vitellines des autres Plathelminthes, des substances trophiques destinées au développement de l'embryon ainsi que les matériaux précurseurs de la sclérotine du cocon.

Parmi les substances trophiques localisées dans le cytoplasme des vitellocytes et que l'on retrouve dans les cellules contenues à l'intérieur des cocons en voie de développement, on relève la présence de protéines à radicaux sulhydrilés pyrroliques et guanidyls, d'acide ribonucléiques et de glycogène.

Dans les globules vitellins sont rassemblées d'autre part les substances participant à la formation du cocon c'est-à-dire le précurseur constitué de protéines à radicaux sulfhydrilés, un orthodiphénol et une catécholase.

Il paraît très vraisemblable que les substances précédentes sont intimement mélangées au cours des phases de brassage du matériel vitellin ce qui permet l'oxydation de l'orthodiphénol en orthoquinone grâce à l'action de la catécholase. Ensuite, l'orthoquinone formée tanne les protéines sulfhydrilées du précurseur. La vérification de cette hypothèse par la recherche du précurseur au niveau de la paroi du cocon déjà formé méritait d'être entreprise. Après blanchiment au diaphanol - indispensable du fait que la sclérotine formée apparait réfringente et pratiquement non colorable dans les conditions habituelles - puis le test au R. S. R., on observe une coloration positive assez pâle mais néanmoins caractéristique.

On constate chez *Polycystis nägelii*, que le précurseur protéique contient des radicaux sulhydrilés, déjà mis en évidence dans la cuticule d'*Ascaris*, le tégument de la Limule (Lafon) ou la coque ovigère des Sélaciens. Il n'est pas impossible que l'oxydation de ces protéines soufrées participe à leur durcissement en même temps que le tannage quinonique.

Quoi qu'il en soit, la formation de la sclérotine du cocon de *P. nägelii* se réalise selon des modalités analogues à celles mises en évidence par Pryor (1940) dans l'oothèque de la Blatte.

Dans le cas particulier de *P. nägelii*, ces phénomènes peuvent se résumer par le schéma suivant :

Globule vitellin {
- Orthodiphénol → Orthoquinone
- Polyphénoloxydase - - → (vers Orthoquinone)
- Protéine → Protéine

Orthoquinone → Sclérotine
Protéine → Sclérotine

2 - Les vitellocytes à cytoplasme homogène.

a - Recherche des polysaccharides.

La coloration par l'A. P. S. donne à cette catégorie de vitellocytes une coloration pourpre particulièrement intense. La contre épreuve qui consiste à tenter la coloration sans prétraitement par l'acide périodique ne fournit que des résultats négatifs de même d'ailleurs que la réaction de Feulgen. En conséquence, la coloration par l'A. P. S. ne peut être due à la présence d'aldéhydes. D'autre part, la recherche du glycogène par blocage préalable au dimédon indique que les cellules à cytoplasme homogène ne possèdent pas ce polysaccharide. La digestion par l'amylase, préalable à l'A. P. S., ne provoque pas une diminution sensible de la coloration. Dans ces conditions, les composés A. P. S. positifs sont probablement des mucopolysaccharides ou des mucoprotéines.

La détection des polysaccharides acides par le bleu Alcian non oxydé à pH 2,6 et par le bleu de toluidine à pH 4 est restée négative.

En revanche, le bleu de toluidine effectué après sulfatation colore intensément en pourpre le cytoplasme de ces vitellocytes homogènes et caractérise ainsi les substances soit comme polysaccharides neutres, soit comme mucoprotéines (ou composés mucoïdes).

b - Recherche des protéines.

Effectuée par les mêmes techniques que celles utilisées lors de l'étude des vitellocytes à globules vitellins, la recherche des protéines a fourni des résultats positifs avec les réactions générales des protéines ainsi qu'avec les tests de Sakaguchi (présence d'arginine) et de Glenner (présence de trytophane). Elles sont toujours dépourvues de protéines à radicaux sulhydrilés et phénoliques.

Il est malheureusement impossible de préciser si les protéines mises en évidence correspondent seulement à la trame protoplasmique de la cellule ou si elles sont associées aux mucopolysaccharides précédemment repérées pour former des mucoprotéines.

c - Conclusion : rôle probable des vitellocytes à cytoplasme homogène.

Il est extrêmement intéressant de remarquer que les réserves accumulées par les vitellocytes à cytoplasme homogène se rapprochent très

précisément sur le plan histochimique des substances sécrétées par les glandes de Mehlis de beaucoup d'Helminthes parasites (Smyth, 1956 ; Smyth et Clegg, 1959).

Or, certaines observations sur la formation de la coque ovigère des Plathelminthes parasites (Tyzzer, 1918 ; Ujiie, 1936) semblent indiquer que la sécrétion des glandes de Mehlis provoque l'expulsion des globules vitellins hors du cytoplasme des vitellocytes.

Il est permis de se demander si les cellules vitellines à cytoplasme homogène de Polycystis nägelii ne jouent pas un rôle identique dans l'élaboration du cocon. Le fait d'avoir remarqué de tels vitellocytes en voie d'histolyse dans certaines pontes en formation ainsi que leur absence régulière dans tous les cocons achevés, constitue un argument assez fort en faveur de cette hypothèse.

IV. - SECRETION UTERINE ET FIXATION DE LA CAPSULE OVIGERE.

Les recherches histochimiques et histoenzymologiques sur les glandes utérines de P. nägelii ont été effectuées par les méthodes précédemment utilisées au cours de l'étude des glandes vitellines.

A. - ETUDE HISTOCHIMIQUE DES GLANDES UTERINES ET DE LEUR SECRETION.

1 - Recherche des polysaccharides.

Après la coloration par l'A. P. S. pratiquée selon le protocole de Hotckiss-Mac Manus, on observe une coloration orangée au niveau de la sécrétion utérine. La digestion préalable par l'amylase ne modifie pas la réaction et il paraît probable que les substances ainsi mises en évidence ne sont pas de polysaccharides.

2 - Recherche des protéines.

Parmi les méthodes générale, la technique à la ninhydrine-Schiff ainsi que celle de la mise en évidence des "protéines basiques" par le bleu de bromophénol en solution aqueuse fournissent chacune un résultat positif indiscutable.

Les glandes utérines prennent une coloration bleu vert intense après la réaction de Chevremont et Frédéricq sans que soit levée l'incertitude due à la présence de composés phénoliques réducteurs. De même, le D. D. D. hautement spécifique des protéines à radicaux sulfhydrilés donne une réponse positive mais discutable en raison de la réaction de diazotation qu'il fait intervenir et qui est suceptible de réagir avec les composés phénoliques présents dans les mêmes cellules. En définitive, seul le R. S. R. qui colore le cytoplasme des cellules glandulaires en orange vif permet d'affirmer l'existence de protéines à radicaux sulfhydrilés.

La recherche des protéines à radicaux aromatiques par les réactions à la benzidine tétrazotée, de Millon, de Morel et Sisley, de Glenner ont fourni des résultats plus ou moins nettement positifs, excepté la dernière qui n'a rien donné. La sécrétion des glandes utérines contient donc de la tyrosine mais pas de tryptophane.

Enfin, le cytoplasme des cellules des glandes utérines se colore en rose violacé par la réaction d'Unna-Papenheim, même après action de la ribonucléase ou hydrolyse chlorhydrique.

3 - Recherche des composés phénoliques.

Dans les glandes utérines de *Polycystis nägelii*, l'azoréaction met en évidence des globules phénoliques qui rappellent les globules vitellins par leur forme mais sont généralement de moindre dimension. Il est intéressant de remarquer que le Fast Red Salt B colore les globules vitellins en brun rougeâtre et les globules phénoliques utérins en pourpre.

Excepté la méthode au molybdate d'ammonium à 5% acétifié qui n'a pas fourni de réponse nette, les réactions argentaffine, chromaffine, au perchlorure de fer et à l'acide osmique ont donné des résultats positifs dont l'ensemble permet de penser que le phénol produit par les glandes utérines est un orthodiphénol.

En raison de la réponse nettement positive de la réaction de Morel et Sisley, il est probable que les groupements phénoliques se trouvent liés au moins en partie aux protéines et on peut supposer que la formation de la sclérotine résulte alors d'un "autotannage quinonique" tel qu'il a été étudié par Hackmann.

4 - Recherche des polyphénoloxydases.

Comme dans le cas des glandes vitellines, elle a été menée par incubation dans des substrats variés. Avec P. nägelii, seuls le catéchol et la dihydroxyphénylalanine ont provoqué le noircissement des cellules glandulaires utérines. Bien que de façon inexplicable le pyrogallol n'ait pas donné de réponse nette, il est très vraisemblable que l'enzyme présente dans les glandes utérines est une catécholase.

La recherche de la tyrosinase au niveau des glandes utérines par la méthode de Fitzpatrick après fixation formolée a donné un résultat négatif.

B. - CONCLUSION : LES MODALITES DE LA FIXATION DE LA CAPSULE OVIGERE CHEZ LES CALYPTORHYNQUES.

Les données précédentes montrent que les cellules glandulaires utérines synthétisent trois catégories de substances qui se trouvent rassemblées dans des "globules de sécrétion" qui présentent bien des ressemblances avec les globules vitellins. Les "globules de sécrétion" des glandes utérines renferment 1) des protéines à groupements sulfhydrilés, 2) un orthodiphénol lié en totalité ou en partie à des protéines sous forme de tyrosine et 3) une polyphénoloxydase.

La formation de la sclérotine à partir de la sécrétion glandulaire utérine résulte donc au moins en partie d'un "autotannage quinonique" de la protéine riche en tyrosine. D'autre part, étant donné les quantités importantes de protéines à groupements sulfhydrilés présentes dans la sécrétion, il n'est pas exclu qu'elles jouent un certain rôle dans le durcissement des protéines, soit avant, soit pendant le tannage quinonique.

Il est également intéressant de remarquer que le cytoplasme des cellules glandulaires utérines renferme à côté des globules de sécrétion, un produit pyroninophile qui par ses réactions histochimiques rappelle de près les substances mises en réserve par les vitellocytes à cytoplasme homogène. Il parait certain qu'une telle substance dont la nature chimique n'a pu encore être précisée mais qui contient vraisemblablement des mucopolysaccharides neutres ou des mucoprotéines, joue un rôle fondamental dans la formation de la sclérotine puisqu'on la trouve non seulement dans les vitello-

gènes et les glandes utérines des Turbellariés, mais encore dans la glande de Mehlis de nombreux Plathelminthes parasites.

Quoi qu'il en soit, la gouttelette de la sécrétion utérine enrobe toute la partie basale du pédoncule de la coque ovigère et sa consistance est très visqueuse. Au moment du dépôt de la ponte, l'animal applique fortement son extrémité postérieure sur le grain de sable ou le rameau d'algue qu'il a choisi comme substrat en écartant largement l'orifice de l'atrium génital où fait saillie l'extrémité du pédoncule. Au bout de quelques minutes seulement, le durcissement de la sécrétion utérine est suffisant et l'animal abandonne la coque ovigère en se tractant sur le substrat par son extrémité antérieure. Lorsque la ponte est particulièrement volumineuse, cette opération longue et laborieuse se termine souvent par la mutilation de l'animal dont la paroi ventrale se déchire.

V. - STRUCTURE DE LA CAPSULE OVIGERE.

Les descriptions des capsules ovigères d'un certain nombre de Calyptorhynques ont été publiées occasionnellement dans divers travaux. Sans vouloir reprendre l'étude détaillée de ces publications, il ne paraît cependant pas inutile de résumer brièvement les données antérieures avant de préciser la structure microscopique de la coque ovigère et de son contenu.

A. - MORPHOLOGIE.

1 - Taille.

Les dimensions de la capsule ovigère sont toujours assez considérables par rapport à celles de l'animal qui lui a donné naissance. En moyenne, la longueur de la capsule ovigère atteint le sixième ou le huitième de la longueur du corps et sa largeur correspond à la moitié ou aux deux tiers de celle de l'animal.

Les cocons à nombreux embryons de certains Polycystidae constituent les plus grosses pontes de Calyptorhynques : chez Polycystis nägelii le diamètre de la ponte peut atteindre 650 µ et renfermer alors jusqu'à seize

embryons ; chez *Opisthocystis goettei* d'après Rixen (1961) le cocon mesure jusqu'à 465 x 450 µ et contient sept embryons (Sekera, 1933). La capsule ovigère de *Baltoplana magna* qui renferme seulement deux embryons peut atteindre un diamètre assez considérable d'environ 350µ .

Il est intéressant de constater que les trois espèces précédentes sont relativement de grande taille : 4 mm chez *Polycystis nägelii* et *Baltoplana magna*, 3 à 3,5 mm chez *Opisthocystis goettei*. Chez *Gyratrix hermaphroditus* qui ne dépasse guère 2 mm de long, la capsule ovigère atteint au maximum 250µ selon Reuter (1961) et 275 µ sur les côtes de Bretagne. Enfin chez les formes plus petites comme par exemple *Placorhynchus octaculeatus* dont le corps mesure 1 mm, la capsule ne dépasse pas 140 µ de long et contient un ovule unique (Karling, 1947, fig. 14 et 1961, p. 30 et fig. 52-54).

Il semble donc que la taille des capsules ovigères soit en rapport avec les dimensions des animaux qui les produisent et dans une certaine mesure aussi avec le nombre d'embryons enfermés dans la ponte.

2 - Forme.

L'aspect externe de la coque ovigère ne varie pratiquement pas dans tout l'ensemble des Calyptorhynques, si bien qu'il est rarement possible de déterminer une capsule récoltée au hasard dans la nature. Sauf très rares exceptions, la capsule comprend deux parties : l'une d'elles est renflée et constitue le corps, l'autre filiforme fixe le corps au substrat, c'est le pédoncule.

La capsule ovigère proprement dite est généralement renflée, plus ou moins irrégulière et bosselée, parfois presque sphérique comme chez *Baltoplana magna*, *Prognathorhynchus typhlus*, *Proschizorhynchus pectinatus* et *P. anophthalmus*. Elle est plus rarement oblongue (par exemple chez *Placorhynchus octaculeatus*), régulièrement ovoïde (chez *Acrorhynchides robustus*) ou piriforme (chez *Gyratrix hermaphroditus*).

Il est rare que les deux pôles de la capsule soient également renflés comme chez *Placorhynchus*. Ils sont le plus souvent disymétriques : le pôle le plus étroit est prolongé par le pédoncule tandis que l'autre est quelquefois pourvu d'un dispositif d'ouverture.

En général le pédoncule est plein mais chez Acrorhynchides robustus, il est creux sur la quasi totalité de sa longueur. A son extrémité distale, le pédoncule s'élargit en une sorte d'entonnoir ou de disque de fixation au diamètre plus ou moins important et qui assure un ancrage très efficace sur le substrat. Chez quelques espèces, les capsules ovigères sont dépourvues de pédoncule et leur fixation est réalisée grâce à une sécrétion qui les enveloppe en entier (Ax, 1969, fig. 46, p. 111 ; Hoxhold, 1971, fig. 4 à 9).

Le pédoncule peut être constitué soit à partir de la sécrétion des glandes utérines comme chez Gyratrix hermaphroditus. Mes observations confirmant celles de Hoxold (1971) semblent indiquer que dans l'ensemble des Calyptorhynques, le filament pédonculaire le plus fréquent est celui sécrété par les glandes utérines.

Chez Gyratrix hermaphroditus les caractères du filament pédonculaire différent d'une population à l'autre (Reuter, 1961). Il est court (30 à 60 µ de long) et épais chez les populations maritimes des côtes allemandes (Hoxold, 1971, p. 261) et bretonnes tandis que celui de la plupart des formes d'eau douce est très long et filiforme (Hallez, 1879, pl. 11 ; Meixner, 1923 ; Berg, 1948 ; Karling, 1963, fig. 13 et 14 ; Holmquist, 1967). Le filament pédonculaire des Gyratrix de Roscoff s'insère directement sur une petite protubérance de la coque ovigère comme celui des individus récoltés par Hoxold (1971, fig. 10) en eau douce dans la région de Göttingen.

Assez fréquemment, à l'opposé du point d'insertion du pédoncule, il existe un dispositif d'ouverture constitué, soit par des lignes de moindre résistance formant un réseau polygonal serré qui occupe tout le sommet de la capsule comme chez Acrorhynchides robustus, Cystiplana karlingi (Hoxold, 1971, fig. 5 F), Ptyalorhynchus caecus, Zonorhynchus seminascatus (l. c., fig. 12 C), Prognathorhynchus typhlus, soit par un véritable clapet comme chez Proschizorhynchus anophtalmus et P. pectinatus, Schizochilus caecus (Hoxold, l. c., fig. 15 A), Thylacorhynchus conglobatus (l. c., fig. 18 C), Diascorhynchus borealis (l. c., fig. 22 A) et D. rubrus (l. c., fig. 23 B et D).

Chez les Baltoplana magna des côtes de Bretagne et de la Mer du Nord (cf. Hoxold, l. c., fig. 20 B), le clapet est formé de deux valves adja-

centes et presque semi-circulaires, tandis que chez les exemplaires de la Baie de Kiel (Giesa, 1966, p. 150) l'orifice arrondi est fermé par trois valves délimitant trois secteurs égaux.

Chez Carcharodorhynchus listensis, la capsule ovigère s'ouvre par deux clapets indépendants (Hoxhold, l. c., fig. 17 B).

Certains Gyratrix hermaphroditus des côtes de Bretagne produisent deux types de capsules ovigères : les unes sont dépourvues de dispositif d'ouverture, les autre munies d'un large clapet apical analogue à celui figuré par Meixner (1923, p. 200, fig. 3).

3 - Coloration.

La couleur des coques ovigères varie en fonction d'un certain nombre de caractères et leur teinte est d'autant plus sombre qu'elles sont pondues depuis plus longtemps. Certaines capsules présentent une coloration caractéristique, orangée chez Baltoplana magna par exemple, jaunâtre chez Gyratrix hermaphroditus, presque noire chez Proschizorhynchus anophthalmus. Mais la plupart du temps, elles sont d'un brun plus ou moins soutenu tirant souvent sur le rouge. A l'exception de celle de Baltoplana magna, les capsules sont transparentes ou translucides au moment de leur formation et le demeurent quelques temps après, tant qu'elles n'ont pas acquis leur coloration définitive.

4 - Sécrétion utérine.

Chez les espèces dont le pédoncule se forme en même temps que la coque ovigère à partir du matériel des globules vitellins (Acrorhynchides robustus, Polycystis nägelii), la sécrétion utérine produit seulement une gouttelette assurant le collage du pédoncule sur le substrat.

Mais comme on l'a signalé précédemment, la ponte de la plupart des Calyptorhynques est munie d'un filament pédonculaire qui provient de la sécrétion utérine dont le volume est alors suffisant pour dilater les parois du canal utérin. Lorsque la capsule ovigère est déposée, la sécrétion est encore assez visqueuse pour assurer l'adhésion au substrat.

Enfin, Hoxold (1971) a signalé chez Marirhynchus longasaeta, Cystiplana karlingi, Nigerrhynchus opisthoporus, Psammorhynchus tubulipenis,

l'existence d'une sécrétion utérine particulièrement importante qui enveloppe complètement la capsule ovigère dont elle assure à la fois la fixation et la protection.

B. - ANATOMIE MICROSCOPIQUE (Fig. 6).

Les techniques histologiques ont permis de préciser la structure de la paroi et du contenu de la capsule ovigère.

1 - Coque ovigère.

Sur coupes, la paroi de la capsule ovigère présente un aspect homogène, parfois feuilleté ou même lamellaire dans sa partie interne. Cette structure résulte très certainement de l'épaississement progressif de la coque résultant de l'adjonction de lamelles successives de sclérotine.

Sur la plupart des capsules, il est impossible de distinguer la moindre différenciation au niveau de la paroi. Chez Gyratrix hermaphroditus cependant, il existe une couche superficielle qui n'a guère plus d'un demi micron d'épaisseur et qui est plus réfringente que le reste de la paroi.

Baltoplana magna possède une coque ovigère épaisse de près de 5 µ et constituée de trois couches distinctes : l'externe mince atteint 1 µ, la moyenne 3 à 3,5 µ et l'interne 0, 5µ environ. Les couches externe et interne sont jaunes, transparentes et réfringentes. La couche intermédiaire a une structure plus ou moins granuleuse et une coloration orangée ; à sa périphérie c'est-à-dire immédiatement sous le pellicule externe transparente, il existe une rangée de minuscules cavités de 0,5 à 1 µ d'épaisseur et tassées les unes contre les autres, qui donnent à la capsule ovigère de Baltoplana une opacité et un aspect analogues à ceux des cocons de certains Oligochètes.

Il est intéressant de rappeler que la capsule des Diascorhynchidae présente une structure alvéolaire qui n'est pas sans rappeler celle de Baltoplana magna, mais dont les cavités se multiplient chez Diascorhynchus borealis ou s'élargissent considérablement chez D. rubrus et Diascorhynchides arenarius (Hoxold, 1971, p. 283 - 286, fig. 22 à 24).

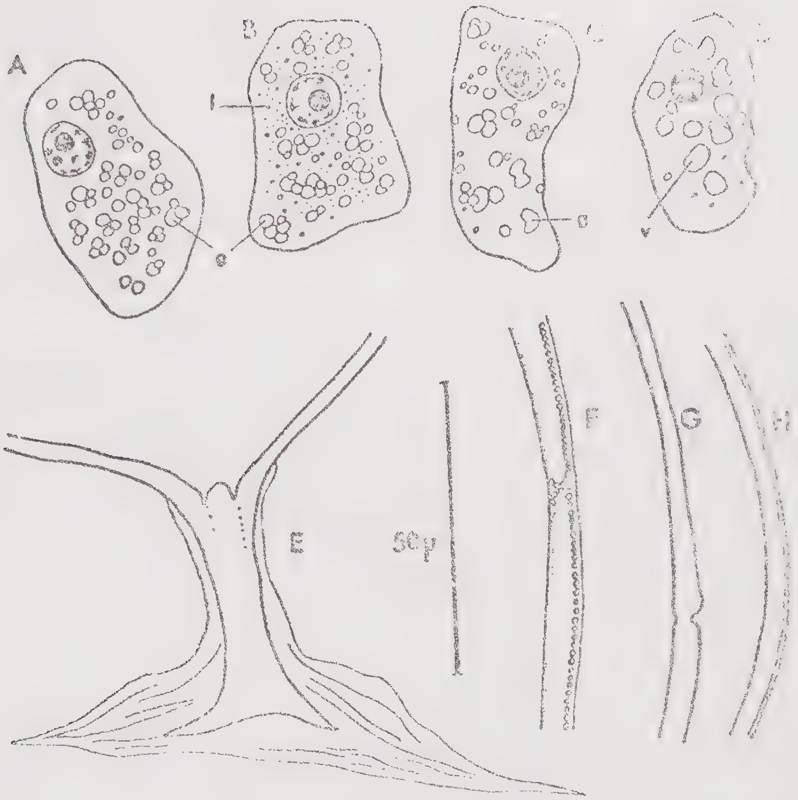


Fig. 6.- Evolution des cellules vitellines de Gyratrix hermaphroditus et structure de la coque ovigère.

A : cellule di vitellogène. - B : cellule du vitellogène colorée au noir Soudan. - C : fusion des globules vitellins pendant la formation de la capsule ovigère. - D : cellules vitelline d'une capsule ovigère. - E : pédoncule du cocon de Polycystis nägelii. F : coupe de la coque ovigère de Baltoplana magna au niveau de l'opercule. - G : coupe de la coque ovigère de Proschizorhynchus anophthalmus au niveau de l'opercule. - H : coupe de la coque ovigère de Gyratrix hermaphroditus. -

g : globule vitellin ; l : inclusion lipidique ; v : vacuole.

Les lignes de déhiscence des dispositifs d'ouverture se présentent sur coupe comme des sillons étroits où la coque ovigère s'amincit. Parfois comme chez Proschizorhynchus anophthalmus, un épaississement annulaire renforce le bord de l'orifice de la capsule dont la rigidité est ainsi augmentée. Chez Baltoplana magna, au niveau des lignes de déhiscence des valves operculaires, la couche moyenne de la capsule présente non seulement un amincissement mais une extention de la structure alvéolaire sur la totalité de son épaisseur.

L'épaisseur de la paroi du cocon oscille entre 2 et 3 µ chez la plupart des Calyptorhynques et atteint 5 µ chez Baltoplana magna. D'une façon générale, il existe un rapport entre l'épaisseur de la coque ovigère et le nombre de cellules vitellines participant à la formation de la capsule. Chez Austrorhynchus scoparius qui possède la particularité d'incuber ses embryons dans l'utérus (Brunet, 1965), la paroi du cocon se constitue normalement mais demeure très mince (1 µ environ).

2 - Cellules germinales.

Comme l'ont déjà noté Hallez (1879), Bresslau (1904-1908) et Meixner (1923), le nombre d'ovocytes contenus dans le cocon d'une espèce déterminée est en relation directe avec le nombre de germigènes.

Chez la plupart des espèces qui possèdent deux germigènes, la ponte compte deux ovocytes donnant deux embryons indépendants (Acrorhynchides robustus, Cicerina tetradactyla, Baltoplana magna, etc...). Cependant, les espèces pourvues de deux germigènes globuleux pondent des cocons qui renferment normalement un nombre assez élevé d'ovocytes : 8 à 16 chez Polycystis nägelii et jusqu'à 7 chez Opisthocystis goettei (Sekera, 1933).

Chez les formes à germigène unique comme par exemple les Gnathorhynchidae, il n'y a qu'un seul ovocyte par cocon : Prognathorhynchus typhlus, Drepanorhynchides diodontus (L'Hardy, 1966), Uncinorhynchus flavidus et U. westbladi (Karling, 1952, fig. 11), Psittacorhynchus verweyi (den Hartog, 1968, pl. I A) ; il en est de même chez Gyratrix hermaphroditus et plusieurs espèces de Proschizorhynchus. Il peut arriver toutefois que deux embryons se développent exceptionnellement dans un même cocon ainsi que l'ont signalé Hallez (1879) et Reuter (1961) chez Gyratrix hermaphroditus.

3 - Cellules vitellines.

Le nombre des cellules vitellines réunies à l'intérieur de la coque ovigère présente des variations assez considérables en fonction de la taille de l'animal, de son état de maturité génitale et de son rythme de ponte. On en dénombre en moyenne entre 50 et 150 par ovocyte.

Dans une capsule nouvellement formée, les cellules vitellines sont très tassées les unes contre les autres et il n'existe aucun espace entre elles et la coque ovigère.

Après le départ des globules vitellins lors de la formation de la paroi de la capsule, les cellules vitellines contenues à l'intérieur de la ponte ont perdu une fraction importante de leur volume cytoplasmique initial, ce qui entraîne une nette réduction des dimensions cellulaires.

De plus à ce stade, la caryolymphe des vitellocytes parfaitement claire et parsemée de quelques rares mottes de chromatine, contient un nucléole important. Très rapidement, le noyau ovalaire devient sphérique et diminue de volume. Les granulations de chromatine deviennent de plus en plus petites et abondantes et finalement c'est tout le suc nucléaire qui prend de façon homogène les laques d'hématoxyline. Le nucléole entouré d'une large cavité creusée dans le nucléoplasme devient irrégulièrement lobé, se pulvérise puis disparaît. Par la suite, la taille du noyau se réduit encore et à l'exception de quelques fines granulations réfringentes son contenu se colore uniformément en noir par l'hématoxyline.

Des observations analogues ont été réalisées chez certains Trématodes l. s. et Turbellariés (Goldschmidt, 1902 ; von Hofsten, 1912 ; Serra, 1947).

DEUXIEME PARTIE

DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES CALYPTORHYNQUES.

Comme dans la première partie de ce travail, je me suis efforcé d'étudier le plus grand nombre possible de Calyptorhynques. J'ai été ainsi amené à entreprendre l'élevage de nombreuses espèces dont plusieurs m'ont fourni des capsules ovigères. Mais très vite, cette méthode s'est révélée inefficace ; en raison des difficultés de récolte de plusieurs espèces, le matériel embryologique était ainsi beaucoup trop insuffisant pour réaliser une étude précise. J'ai donc été conduit à sélectionner sur le critère des facilités de récolte et d'élevage, un certain nombre d'espèces. Trois d'entre elles qui présentent heureusement des modalités de développement assez variées, ont fourni un matériel suffisant pour permettre une étude embryologique assez approfondie. Deux de ces espèces appartiennent aux Eu-Calyptorhynques Polycystidae : Polycystis nägelii et Acrorhynchides robustus et la troisième, Baltoplana magna, aux Schizorhynques Karkinorhynchidae.

Par ailleurs, les autres documents dont je dispose mais qui malheureusement sont encore incomplets, permettent néanmoins de penser que le développement embryonnaire des Gnathorhynchidae (Eucalyptorhynques) et des Schizorhynchidae (Schizorhynques) ne diffère pas fondamentalement de celui des espèces examinées au cours du présent travail.

L'application des techniques histologiques au contenu des cocons soulève un certain nombre de problèmes délicats. L'utilisation même de ces techniques peut paraître criticable puisque les phénomènes embryologiques et morphogénétiques qui s'y déroulent sont essentiellement dynamiques et doivent donc être reconstitués à partir d'un ensemble de stades dont la sériation n'est pas toujours exempte d'incertitudes du fait qu'ils proviennent de pontes différentes. La méthode qui consiste à suivre l'évolution d'un même embryon est certainement préférable, mais il faut bien reconnaître qu'elle est strictement inapplicable aux Turbellariés Ectolécithophores dont l'embryon se développe au milieu d'une masse de cellules vitellines

et à l'abri d'une coque ovigère opaque. Finalement, lorsque le matériel est suffisamment abondant la sériation des différents stades ne soulève pas de difficultés insurmontables car on dispose alors de nombreux points de comparaison.

Fixation.

La présence d'une coque ovigère à la fois élastique, résistante et imperméable à certaines substances rend extrêmement délicate toute fixation. Dans le cas de capsules assez volumineuses, la meilleure solution consiste à les fendre avant de les plonger dans le fixateur et c'est la méthode qui a été utilisée pour *Polycystis nägelii* et *Baltoplana magna* (fixateurs employés : Bouin et Helly). Chez *Acrorhynchides robustus*, la capsule ovigère nettement plus petite que les précédentes a une paroi suffisamment résistante pour interdire une telle opération qui provoquerait la destruction de la ponte. Il est donc indispensable ici, de réaliser la fixation au travers de la coque, grâce à un fixateur très pénétrant. Les fixateurs alcooliques doivent être évités car ils provoquent l'écrasement de la ponte à cause vraisemblablement des différences de perméabilité de la paroi vis-à-vis de l'eau et de l'alcool. Après de multiples essais, les meilleurs résultats ont été obtenus avec le liquide de Bouin (Langeron, p.430) à basse température, et avec le mélange bichromate de potassium-sublimé-formol proposé par Giesa (1966, p. 144). Pour le travail courant, une fixation par le Bouin refroidi me parait préférable en raison de sa simplicité d'emploi et de la régularité des résultats qu'elle permet d'obtenir. L'utilisation du mélange bichromate de potassium-sublimé-formol dont l'emploi est délicat, ne se justifie à mon avis que pour préciser le détail des structures nucléaires. Au cours de la réalisation de ce travail, les pontes d'*Acrorhynchides robustus* ont été fixés pendant 12 à 24 h. au Bouin refroidi à 4° C ; elles ont ensuite été rincées à l'eau distillée et conservées dans du formol à 5%.

Déshydration et inclusion.

Elles ont subi ensuite une déshydration progressive par la méthode d'Overton (cf. Romeis, paragraphe 145) telle qu'elle a été utilisée par Seilern-Aspang (1957) et Giesa (1966). Les pièces à déshydrater sont réu-

nies au fond d'une salière contenant quelques gouttes d'eau distillée. La salière est déposée à l'intérieur d'un cristallisoir à bord rodé au fond duquel on verse de l'alcool à 5% sur une hauteur de 4 à 5 mm seulement, de façon à ce que le niveau de cet alcool ne dépasse pas le rebord supérieur de la salière. Le cristallisoir est clos hermétiquement par une lame de verre lutée avec de l'huile de vaseline. Par diffusion en phase gazeuse, la concentration de l'alcool dans l'eau distillée et les capsules qu'elle contient augmente très progressivement. Au bout de 24 h., l'alcool à 5% qui occupe le fond du cristallisoir est pipeté et remplacé par de l'alcool à 10%. Chaque jour l'alcool est ainsi changé par un alcool plus concentré selon une série régulièrement croissante.

A partir de l'alcool à 70%, il est préférable de doubler ou de tripler la durée d'action de chaque alcool afin d'obtenir une meilleur déshydratation. Celle-ci dure donc huit à dix jours et il vaut mieux prolonger l'action de l'alcool absolu pendant une période équivalente. Après 15 à 20 jours, le contenu de la salière dans lequel baignent les pontes a une concentration en alcool de l'ordre de 90% ; il peut être remplacé sans risque d'accident par de l'alcool à 96%. Les pontes sont alors rassemblées pipetées et projetées dans un récipient contenant de l'eau distillée. En quelques secondes, on observe une dilatation des capsules ovigères dont les parois finissent habituellement par se fendre sans abîmer la ponte.

La déshydration peut alors être réalisée comme pour une pièce quelconque ; il en est de même pour les pontes de Polycystis nägelii ou Baltoplana magna préalablement fendues ; il faut tout de même tenir compte du fait que le contenu de la capsule ovigère n'est pas en contact immédiat avec l'alcool dans lequel il est plongé, et augmenter en conséquence les temps de passage dans chaque bain de déshydratation. Celle-ci s'achève par trois bains d'alcool butylique, et l'inclusion se fait dans une cytoparaffine dure (température de fusion 57 - 59° C).

Confection des coupes.

Une autre difficulté provient de la coque ovigère dont la résistance détermine presque toujours des accidents au moment de la réalisation des coupes. Elle peut être éliminée soit immédiatement après la fixation soit, ce qui est préférable, après la déshydratation

selon la méthode proposée par Bresslau (1904, p.220) et qui consiste à inclure la ponte dans un bloc de paraffine provisoire. Il est alors relativement simple de faire sauter les parois de la capsule avec la pointe d'un scalpel sans aucun risque pour les embryons. En plus de cette manipulation fastidieuse mais qui donne d'excellents résultats, j'ai utilisé des techniques permettant l'inclusion de la capsule entière. L'inclusion mixte au collodion-paraffine pratiquée suivant le procédé de Peterfi (Langeron, p. 479) donne de bons résultats. Il est aussi possible de ramollir considérablement les protéines tannées qui constituent la coque en prolongeant les bains d'alcool butylique durant plusieurs jours. Cette méthode peut être conjuguée éventuellement avec un allongement du temps de passage dans la paraffine chaude que l'on peut porter sans inconvénient notoire jusqu'à 24 ou 48 h., si les pièces ont subi auparavant une déshydratation très complète (cf. Gabe, 1968, p. 81).

Coloration.

Les coupes faites à 5 µ d'épaisseur ont été colorées par l'hématoxyline et l'éosine.

CHAPITRE IV

REMARQUES PRELIMINAIRES SUR L'EMBRYOLOGIE DES ECTOLECITHOPHORES.

I. - HISTORIQUE.

Les premiers travaux consacrés à l'embryologie des Turbellariés sont dus en particulier à Girard (1850), van Beneden (1860), Claparède (1863), Vaillant (1867), Kerfestein (1869), Goette (1878), Hallez (1879) et Selenka (1881). Il s'agit dans tous les cas d'observations microscopiques sur matériel vivant, méthode qui permet de suivre de façon satisfaisante le développement de l'oeuf endolécithique des Polyclades ou des Acoeles dont la ponte est enveloppée d'une gangue transparente mais se révèle de l'aveu même d'Hallez, très insuffisante dès qu'il s'agit d'aborder l'étude des pontes protégées par une coque ovigère opaque et résistante. Un tel travail n'a pu être mené à bien que par l'application des techniques histologiques permettant la réalisation de coupes sériées.

Les Triclades d'eau douce qui se reproduisent assez facilement en élevage et dont les pontes sont assez volumineuses pour permettre l'élimination de la coque ovigère avant la fixation et l'inclusion, ont permis à Knapert (1865), Metschnikoff (1883), Ijima (1883), Hallez (1887) et Matthiesen (1904 de préciser les principaux caractères de leur développement embryonnaire. La poursuite de ce travail et son extension à d'autres espèces de Triclades ont rapidement mis en évidence leur originalité remarquable sur le plan du développement embryonnaire.

Chez les autres groupes en revanche, la taille généralement réduite de la coque constitue un obstacle presque insurmontable. Seules peuvent être correctement étudiées, les pontes qui ne sont entourées que par une paroi fine et molle comme les oeufs d'été de différents Typhloplanoïdes Mesostomidae et ceux des Paravortex (Dalyellioïdes), ou bien celles qui

sont quand même assez volumineuses pour être au moins percées avant la fixation puis éliminée ultérieurement par différents procédés.

En définitive, le nombre des espèces étudiées est très restreint. Ainsi, Bresslau (1899 et 1904) a réussi à suivre le développement embryonnaire de quatre Mesostomidae : Mesostomum ehrenbergi, M. lingua, M. productum et Bothromesostomum personatum et d'un Plagiostomide : Plagiostomum girardi. Les observations de Hallez (1909) sur Paravortex cardii et celles de Patterson (1912) et Ball (1916) sur P. gemellipara ont permis de préciser le modalités du développement des Dalyellioïdes dont les principales caractéristiques se retrouvent également chez les Fecampia étudiés par Caullery et Mesnil (1903). Ce n'est qu'à une date récente et consécutivement à la mise au point de techniques particulières de fixation et d'inclusion qu'ont pu être abordées des recherches embryologiques sur les Macrostomides (Seilern - Aspang, 1947 ; Bogomolov, 1949 et 1960) et les Protriclades (Reisinger, 1955 et Giesa 1966) dont les capsules ont une taille plus réduite.

Sans entreprendre l'analyse détaillée des publications précédentes qui trouvera place à la fin de ce travail, il paraît cependant utile de préciser ici les étapes principales du développement des Ectolécithophores telles qu'elles apparaissent à la lecture de ces différents documents.

La segmentation de l'oeuf est totale chez l'ensemble des Turbellariés. Chez les Endolécithophores, la segmentation est régulière, de type spiral parfois un peu modifié comme chez les Acoeles, et conduit à la formation d'une coeloblastula où se différencient progressivement les organes du futur animal.

En revanche, la segmentation de l'oeuf des Turbellariés Ectolécithophores présente des modalités plus variées.

Chez Prorhynchus (Steinböck et Ausserhofer, 1950) Bresslauilla (Bogomolov, 1949) et les Protriclades (Giesa, 1966), les premiers clivages se font dans un ordre et dans des plans identiques à ceux des Spiralia typiques.

L'embryologie des Triclades se singularise par un certain nombre de caractères particuliers parmi lesquels on doit placer leur mode de segmentation qualifié d'adiaphorétique (Hallez), remarquable par l'éloignement des blastomères aussitôt après leur cytodiérèse.

Enfin chez les Typhloplanoïdes Mesostomidae (Bresslau, 1904) et les Dalyellioïdes (Hallez, 1909 ; Ball, 1916), la segmentation est nettement atypique dès le premier clivage qui isole un micromère au pôle animal de l'oeuf.

Des crises mitotiques successives provoquant la prolifération des blastomères conduisent à la formation d'un embryon d'aspect morulaire où commencent à se manifester les premiers signes de différenciation cellulaire. Chez les Ectolécithophores, les blastomères les plus rapidement différenciés sont quelques grosses cellules vitellophages provenant du macromère initial et qui phagocytent activement le vitellus environnant en ménageant toutefois chez les Mesostomidae, les cellules vitellines situées à la périphérie de chaque embryon . Chez les Triclades dont les blastomères s'isolent très tôt les uns des autres, l'absorption du vitellus est beaucoup plus tardive et ne se réalise qu'après la formation de l'embryon et la différenciation d'un pharynx provisoire.

A peu près en même temps que les vitellophages, se différencie une membrane embryonnaire résultant de la migration de certains blastomères à la périphérie du vitellus qui entoure chaque embryon. Chez les Triclades, cette membrane est désignée sous le nom d'ectoderme provisoire ; elle fait défaut chez les Dalyellioïdes tandis que chez les Mésostomides, elle est remplacée par une enveloppe épithéliale constituée par les cellules périphériques du vitellus.

Lorsque la membrane embryonnaire délimite parfaitement le territoire correspondant au futur embryon, la morula issue des divisions de segmentation se dissocie plus ou moins rapidement ; ses blastomères migrent au travers des cellules vitellines pour se regrouper en quatre ébauches embryonnaires qui se disposent à la face ventrale du futur animal :

- à la partie antérieure, deux ébauches paires symétriques et à peine séparées l'une de l'autre par un espace sagittal très étroit ;

- un peu en arrière, une ébauche moyenne impaire légèrement plus volumineuse que chacune des deux ébauches précédentes ;

- enfin une ébauche postérieure impaire, souvent réduite à quelques cellules

Les deux ébauches antérieures se fusionnent sans tarder le long du plan sagittal. Les petites cellules externes s'étalent en une lame monocellulaire pour former au pôle antérieur de l'embryon, une calotte qui s'étend progressivement vers l'arrière par multiplication et migration cellulaire ; ainsi se trouve mis en place l'épithélium tégumentaire. Le reste de la masse cellulaire des deux ébauches antérieures va constituer les ganglions cérébroïdes. Les fibres nerveuses ganglionnaires apparaissent tout d'abord comme deux massifs pairs symétriques qui s'étirent transversalement jusqu'au niveau du plan sagittal où ils se soudent. Les nerfs et les organes sensoriels se forment à partir des fibres nerveuses ganglionnaires.

Dans l'ébauche intermédiaire, un certain nombre de cellules se réunissent pour élaborer un massif sphérique qui se perce par la suite pour constituer le pharynx. L'intestin se forme à partir des cellules oesophagiennes situées à l'extrémité dorsale de l'ébauche pharyngienne.

Les cellules de l'ébauche postérieure groupées en croissant en arrière de l'ébauche pharyngienne, participent ultérieurement à la formation des organes génitaux.

II. - DETERMINATION DU PLAN DU PREMIER CLIVAGE CHEZ LES CALYPTORHYNQUES.

Comme on vient de le voir, il est particulièrement important de préciser l'orientation de la première division de segmentation par rapport à l'axe polaire de l'oeuf.

J'ai pu observer chez *Acrorhynchides robustus* et *Baltoplana magna*, la présence de globules polaires en cours de dégénérescence mais encore bien visibles chez les embyons parvenus au stade 2 ou 3. La position de ces globules permet de repérer l'orientation du premier fuseau de segmentation dont l'axe est incliné de 20 à 30° par rapport à l'axe polaire, si bien que le premier blastomère apparaît au voisinage immédiat du pôle animal de l'oeuf.

Chez *Polycystis nägelii* comme chez les espèces précédentes, les globules polaires dont on a pu voir l'émission au cours de la maturation de

l'ovocyte subissent une pycnose rapide qui les fait disparaître dans le magna des cellules vitellines environnantes. De plus chez Polycystis, la maturation se produit très précocement lors de la formation de la ponte et les contractions de l'utérus qui ont lieu à ce moment là favorisent encore la dégénérescence des globules polaires qui disparaissent bien avant la formation du stade 2. Cependant, en extrayant artificiellement le cocon en formation de l'utérus des animaux ovigères, il devient possible d'observer les globules polaires durant les toutes premières étapes de la segmentation.

Dans ces conditions, on constate que le premier fuseau de division s'oriente selon un axe qui correspond presqu'exactement à l'axe polaire de l'oeuf, et le blastomère qui se forme au pôle animal entraîne avec lui les globules polaires.

En définitive, chez les Calyptorhynques comme chez les Typhloplanoïdes et les Dalyellioïdes, la première division de segmentation donne naissance à un petit blastomère localisé au pôle animal et un blastomère végétatif nettement plus volumineux.

III. - NUMEROTATION DES BLASTOMERES.

A. - OBSERVATIONS ANTERIEURES.

Chez la plupart des Endolécithophores ainsi que chez les autres Spiralia, les deux premiers clivages méridiens orthogonaux donnent naissance au stade 4 à partir duquel se forment des quartettes successives de blastomères qui s'isolent par des cloisonnements perpendiculaires à l'axe polaire de l'oeuf.

Une telle segmentation régulière a été signalée également chez certains Ectolécithophores comme Prorhynchus stagnalis (Steinböck et Ausserhofer, 1949), Bresslauilla relicta (Bogomolov, 1949) et Monocelis fusca (Giesa, 1966).

Cependant, la segmentation précoce des Calyptorhynques comme celle des Typhloplanoïdes, des Plagiostomoïdes et des Dalyellioïdes (cf. Bresslau, 1904 ; Hallez, 1909 ; Ball, 1916) présente des modalités tout à fait singulières. Chez eux, les clivages successifs n'intéressent que le macromère

végétatif issu de la première division de segmentation et qui va s'entourer progressivement d'un certain nombre de blastomères.

Pour Bresslau (l. c.), ce cycle de divisions mitotiques tout à fait particulier aboutirait néanmoins à la formation d'un stade 4 homologue de celui des autres Spiralia et dont le dernier blastomère formé est le plus volumineux. Il repère les blastomères issus des trois premières divisions par les lettres A, B et C et désigne par D le macromère végétatif.

En revanche, Giesa (1966, p. 219) considère le micromère formé au cours de ce premier clivage comme l'homologue du blastomère AB des autres Spiralia.

On doit constater cependant que dans tous les exemples connus, ce micromère résultant de la première segmentation a une taille très faible par rapport à celle du macromère qui s'individualise en même temps que lui. En revanche, chez les Macrostomides et Monocelis fusca les différences de taille des deux blastomères AB et CD sont moins évidentes, sauf dans quelques cas exceptionnels vraisemblablement pathologiques et de ce fait dépourvus de toute signification phylogénique.

Un second argument plus important s'oppose encore à cette homologie. Chez les Macrostomides et Monocelis, le premier clivage est toujours méridien et parfaitement reconnaissable comme tel, même quand il présente une certaine obliquité comme on l'a signalé précédemment. Chez les Turbellariés Ectolécithophores à segmentation atypique, le micromère s'isole constamment - sauf peut-être chez les Plagiostomides où Bresslau (1904) ne précise pas l'orientation de la division - au pôle animal et le macromère au pôle végétatif, si bien que la cloison qui les sépare apparaît dans un plan subéquatorial. Dans tous les cas où elle a pu être étudiée en détail c'est-à-dire chez les Dalyellioïdes, les Typhloplanoïdes et les Calyptorhynques, l'orientation du clivage est fixe durant toute la division cellulaire et se maintient par la suite. Elle ne résulte jamais d'un mouvement morphogénétique entraînant le micromère à la surface du macromère (cf. Papi, 1953) ou provoquant la rotation du fuseau de division comme cela se produit au cours du premier clivage de l'oeuf des Nématodes (Boveri, 1899 ; Müller, 1903 ; zur Strassen, 1896) et des Gastrotriches (de Beauchamp, 1930 ; Swedmark, 1955 ; Teuchert, 1968).

B. DISCUSSION.

Je pense donc que l'on ne peut retenir l'homologie proposée par Giesa et que le micromère issu de la première division chez les Turbellariés Ectolécithophores à segmentation atypique, correspond à un véritable micromère dont il possède à la fois la taille et la localisation. Cette façon de voir est d'ailleurs confirmée par l'étude des étapes ultérieures de la segmentation chez les Calyptorhynques où l'on ne retrouve pas la séquence des divisions typiques des Spiralia.

L'inconvénient essentiel des systèmes précédents tient au fait qu'ils introduisent volontairement et à priori, des homologies avec le développement typiquement spiral des Turbellariés Endolécithophores. Une telle méthode ne peut être retenue puisque des blastomères prétendument homologues se trouvent formés chez les uns et les autres par des clivages dont les orientations par rapport à l'axe polaire ne sont pas comparables.

En conséquence, il paraît préférable d'abandonner un système de repérage des blastomères qui risque de provoquer des confusions. C'est pourquoi dans les pages qui suivent, je désignerai chaque blastomère par un chiffre indiquant simplement son ordre d'apparition : le micromère animal formé à la première division sera numéroté 1, le blastomère issu du second clivage 2 etc... en réservant le symbole V pour le macromère. Ce système de numérotation sera suivi jusqu'à l'équipartition du macromère V qui fournira les blastomères n et n + 1.
A ce stade, tous les blastomères sont de taille comparable, à l'exception du premier franchement plus petit que tous les autres ; j'ai donc renoncé à distinguer les deux catégories cellulaires habituelles. La numérotation des cellules filles issues des blastomères précédents est indiquée sous la forme d'un exposant comme dans les systèmes de repérage traditionnels.

IV. - PARTICULARITES DE L'EVOLUTION NUCLEAIRE DES BLASTOMERES.

Au cours des divisions de segmentation, les blastomères présentent des noyaux à caryomérites dont la structure particulière mérite d'être examinée en détail.

A. - OBSERVATIONS ANTERIEURES.

Il est intéressant de remarquer que de tels noyaux à caryomérites ont déjà été signalés à diverses reprises chez des Turbellariés Polyclades (Francotte, 1896 et 1898 ; Klinckowstroem, 1897), Protriclades (Reisinger, 1940 ; Giesa, 1966), Typhloplanoïdes (Bresslau, 1904), Dalyellioïdes (Hallez, 1909 ; Ball, 1916) et d'autres Plathelminthes tels que *Polystomum integerrimum* (Halkin, 1902 ; Goldschmidt, 1902). Les structures décrites chez *Bothrioplana semperi* par Reisinger et chez *Monocelis fusca* par Giesa s'apparentent très étroitement à mes observations sur *Polycystis nägelii*.

B. - OBSERVATIONS PERSONNELLES.

Au début du développement embryonnaire, les noyaux sont presque constamment en division et il est bien rare d'en voir au repos.

Pendant l'intercinèse toujours très brève, la membrane nucléaire est fine et la caryolymphe abondante paraît optiquement vide hormis quelques granulations de chromatine dense. Dans la plupart des cas, les noyaux présentent une forme irrégulièrement lobée qui rappelle celle des pronuclei. Peu de temps avant d'entrer en division, ils sont le siège d'un gonflement qui leur donne une forme sphérique puis régulièrement elliptique lorsqu'ils s'allongent entre les deux centrosphères, tandis que la chromatine se condense sous la forme de filaments grêles, très longs et plus ou moins enchevêtrés.

A la fin de la prophase, les filaments chromosomiques apparus précédemment s'individualisent et s'isolent les uns des autres. Chacun des chromosomes s'entoure d'une membrane qui l'enveloppe complètement, tandis que s'estompe la membrane nucléaire. Un examen précis montre que chaque filament

chromosomique possède sa membrane propre entourant une cavité claire plus ou moins allongés au milieu de laquelle se trouve le filament chromosomique proprement dit qui présente de place en place des petites masses de chromatine bien colorables par l'hématoxyline. Les caryomérites ainsi constitués vont se développer par le gonflement de leur cavité qui étire leur membrane, alors que les granulations de chromatine auparavant nombreuses, disparaissent progressivement.

Très peu de temps avant la mise en place de la plaque métaphasique, les caryomérites se transforment subitement en chromosomes bien caractérisés, assez longs et grêles mais très colorables. Au cours de l'anaphase, les chromosomes subissent un raccourcissement et un épaississement assez considérables qui se poursuivent jusqu'à leur regroupement aux deux extrémités du fuseau achromatique.

A la fin de la télophase, les chromosomes perdent leur colorabilité tandis qu'apparaissent autour d'eux des vacuoles très étroites qui gonflent rapidement et reconstituent des caryomérites. Ceux-ci se distinguent des caryomérites prophasiques car ils ne contiennent jamais de filament chromatique axial. Bien au contraire, la chromatine des caryomérites formés après la division, apparaît sous la forme de masses diffuses, mal définies et disposées irrégulièrement au sein de la cavité du caryomérite où se reconstituent en outre des nucléoles. Par l'accroissement régulier du volume de leur cavité, les caryomérites augmentent considérablement de taille et peuvent dépasser, au cours des premières divisions de segmentation, 15 µ de long sur 6 ou 7 de large chez Polycystis nägelii. Peu à peu, les différents caryomérites qui sont restés jusque là indépendants, se rapprochent les uns des autres avant de se fusionner en un noyau interphasique dont chaque lobe correspond à l'un des caryomérites qui lui ont donné naissance.

Cette particularité cytologique du cycle mitotique se répète à chaque division, tout au moins au début de la segmentation. Par la suite, les différentes étapes de la division nucléaire des blastomères reprennent une allure plus banale. Chez Acrorhynchides robustus et Baltoplana magna, les noyaux à caryomérites s'observent seulement durant les premières étapes de la segmentation, tandis que chez Polycystis nägelii ils persistent encore dans les embryons morulaires comptant plus de cinquante cellules.

CHAPITRE V

DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET POSTEMBRYONNAIRE DE *POLYCYSTIS NAGELII*.

Le cocon de *P. nägelii* a un diamètre moyen compris entre 400 et 650 et contient normalement 8 à 16 embryons et 300 à 800 cellules vitellines.

Le développement embryonnaire est rapide et les jeunes *Polycystis* s'échappent du cocon au bout d'une quinzaine de jours à la température de 18° C.

I. - SEGMENTATION.

A. - OEUF INDIVIS.

A l'issue des divisions de maturation, l'oeuf fécondé a repris une forme régulièrement ellipsoïde identique à celle de l'ovocyte fraîchement pondu, mais pas plus que chez ce dernier il n'est possible de déceler une polarité au niveau des structures cytoplasmiques.

Cet oeuf de type oligolécithe mesure 60 à 70 µ selon son grand axe et 40 µ dans sa plus grande largeur.

Après la maturation, les deux pronuclei se rejoignent dans la partie centrale de l'oeuf.

B. - PREMIERES ETAPES DE LA SEGMENTATION (Fig. 7).

1 - *Formation du stade 2.*

Les asters de la première division de segmentation se localisent sous la membrane cytoplasmique de l'oeuf et l'orientation du fuseau achromatique correspond au grand axe de l'oeuf comme dans les deux divisions de maturation. Les chromosomes observés en métaphase atteignent encore

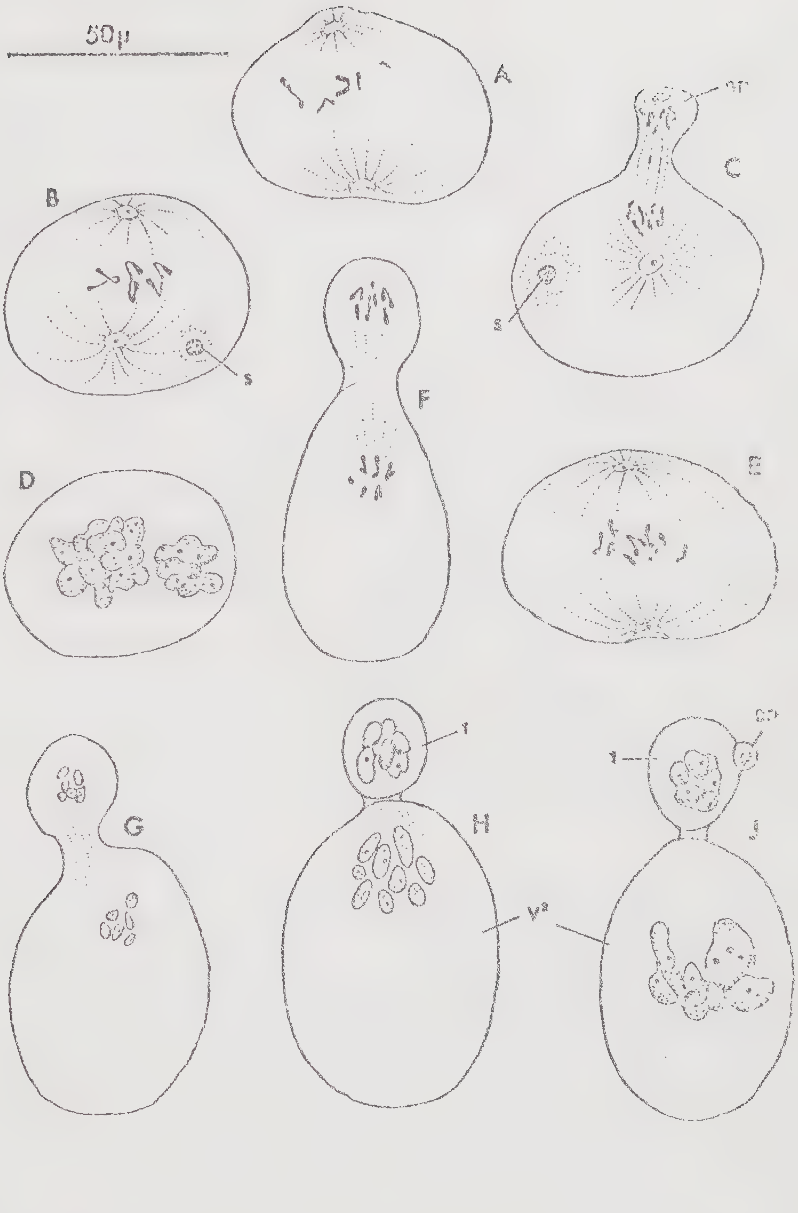


Fig. 7.- Maturation de l'ovocyte et première division de segmentation de Polycystis nägelii.
A et B : maturation de l'ovocyte. - C : expulsion du second globule polaire. - D : formation des pronuclei. - E : première division de segmentation. - F, G, H et J : formation du stade 2. -
gp : globule polaire ; s : noyau spermatique ;
V^2 : macromère végétatif ; 1 : micromère animal.

une taille assez considérable puisqu'ils ont jusqu'à 7 - 8 µ de longueur ; mais durant l'anaphase et la télophase, ils se raccourcissent sensiblement. A la télophase, le fuseau achromatique qui s'est allongé entre temps, se déplace en outre sur le flanc de l'oeuf qui donnera le second blastomère. Ce mouvement qui entraîne une certaine masse de cytoplasme provoque une déformation de l'oeuf qui prend une forme tétraédrique de plus en plus allongée et finit par devenir piriforme.

Les différences de taille entre les deux premiers blastomères sont assez considérables puisque le micromère 1 qui est en train de s'individualiser a un diamètre moyen de 20 à 25µ , tandis que le macromère V^1 atteint 50 - 60µ sur 40. Le micromère s'isole du même côté et à proximité immédiate du point d'expulsion des globules polaires.

A la fin de la télophase, la coalescence des caryomérites reconstitue, dans chacun des blastomères, des noyaux interphasiques lobés. Celui du micromère occupe toute la partie centrale de la cellule ; dans le macromère, en revanche, les caryomérites qui après la division nucléaire se rassemblent immédiatement en-dessous de la zone d'extrusion du micromère, migrent ensuite lentement jusque dans la partie centrale du macromère tout en se fusionnant les uns aux autres.

Au moment de son individualisation, le cytoplasme du micromère prend momentanément les colorants acides d'une façon plus intense que le cytoplasme du macromère voisin. Durant les étapes ultérieures de la segmentation, cette colorabilité particulière caractérise également tous les autres blastomères surtout s'ils sont de petite taille. L'apparition de la membrane cellulaire séparant les deux premiers blastomères ne se produit que tardivement, après que leurs noyaux aient repris tous les deux une structure interphasique.

Jusqu'à ce stade, le macromère ovoïde présente un axe d'allongement qui correspond à l'axe de symétrie de l'embryon et passe par le point d'où sont expulsés successivement les deux globules polaires et le micromère. Ainsi, le grand axe du macromère se confond à la fois avec l'axe de symétrie de l'embryon et l'axe polaire de l'oeuf.

2 - <u>Formation du stade 3</u>.

Mais tandis que le noyau du macromère se trouve encore en interphase,

les figures astériennes préparant la division suivante se déplacent de part et d'autre de cet axe provoquant une déformation du cytoplasme. A la suite de ce phénomène, le blastomère retrouve une forme régulièrement elliptique mais son grand axe d'allongement est alors perpendiculaire à l'axe de symétrie défini précédemment et donc à l'axe polaire. Le fuseau de division qui se forme est lui aussi perpendiculaire à cet axe. Le noyau puis les caryomérites quittent également la zone centrale du macromère et la division se fait à la périphérie de ce dernier.

La nouvelle cellule 2 qui s'isole a des dimensions nettement inférieures à celles du macromère puisqu'elles atteignent seulement 35 μ x 30μ . A la suite de cette seconde segmentation, le macromère V^2 devient presque sphérique et son diamètre est de l'ordre de 50 à 55μ . Comme dans la division précédente, l'apparition de la membrane cytoplasmique se fait très tardivement.

3 - Formation du stade 4.

La troisième division de segmentation débute très rapidement après la fin de la division précédente avant même que le noyau du macromère ait le temps de revenir au centre de la cellule. Cette division commence comme la précédente, par un allongement du macromère déterminé par la migration précoce des deux asters aux extrémités de la cellule. L'allongement du macromère se réalise alors suivant l'axe de symétrie défini plus haut. Cependant, le fuseau de division qui se constitue n'est pas exactement parallèle mais légèrement oblique par rapport à l'axe de symétrie, sans doute en raison de la position excentrique des caryomérites. De plus, ce fuseau qui ne s'étend pas sur toute la longueur de la cellule est un peu incliné par rapport à son plus grand axe et c'est par une cloison oblique que se séparent les deux cellules-filles qui se chevauchent partiellement.

Les deux blastomères issus de cette troisième division sont de taille presqu'équivalente ; le blastomère 3 mesure 40 à 45 μ de long sur 30 à 35 de large et le macromère V^3 est légèrement plus volumineux.

L'embryon se compose alors des quatre cellules suivantes : le macromère V^3, au pôle végétatif ; le blastomère 2, situé latéralement sur V^3 et parfois plus ou moins coincé entre lui et le blastomère 3 ; le micromère 1, au pôle animal.

4 - Formation du stade 5.

Immédiatement après son isolement, le blastomère 3 entre de nouveau en division. Le fuseau achromatique s'allonge cette fois encore selon un axe longitudinal par rapport au plan de symétrie primitif de l'embryon, mais il est également un peu incliné et donne naissance à deux blastomères 3^1 et 3^2, séparés par une cloison nettement oblique qui forme un pont cellulaire visible pendant longtemps entre ces deux cellules ; ces dernières atteignent chacune 30 µ de diamètre environ.

B. - PHASE DE MULTIPLICATION CELLULAIRE (Fig. 8).

1 - Divisions conduisant au stade 8.

Au delà de ce stade, les divisions de segmentation s'accélèrent et aboutissent à de véritables crises mitotiques intéressant simultanément plusieurs cellules.

En très peu de temps, s'amorcent trois divisions qui se sont précedemment préparées. Elles intéressent :

- le macromère V^3 où apparaît un fuseau de division longitudinal aboutissant à un cloisonnement transversal isolant du côté animal, le blastomère 4 qui mesure environ 30 µ sur 20 et reste en contact avec 3^1 et V^4, lequel est plus volumineux et situé au pôle végétatif de l'embryon ;

- le blastomère 2 qui se clive aussi par cloisonnement transversal en deux cellules légèrement inégales, la plus volumineuse étant celle qui reste à la périphérie de l'embryon ;

- le micromère 1 qui se divise obliquement.

Il est curieux de constater que la division du micromère qui se prépare dès le stade 4, se termine bien après les deux autres divisions qui concernent pourtant des cellules plus volumineuses.

Selon l'ordre dans lequel se succèdent les trois divisions précédentes, des stades transitoires à six cellules apparaissent qui sont constitués :

- soit par les blastomère 1, 2^1, 2^2, 3^1, 3^2 et V^3 ;

- soit par 1^1, 1^2, 2, 3^1, 3^2 et V^4.

Il faut noter que la structure des embryons varie non seulement d'un cocon à l'autre mais aussi à l'intérieur d'un même cocon où l'on observe

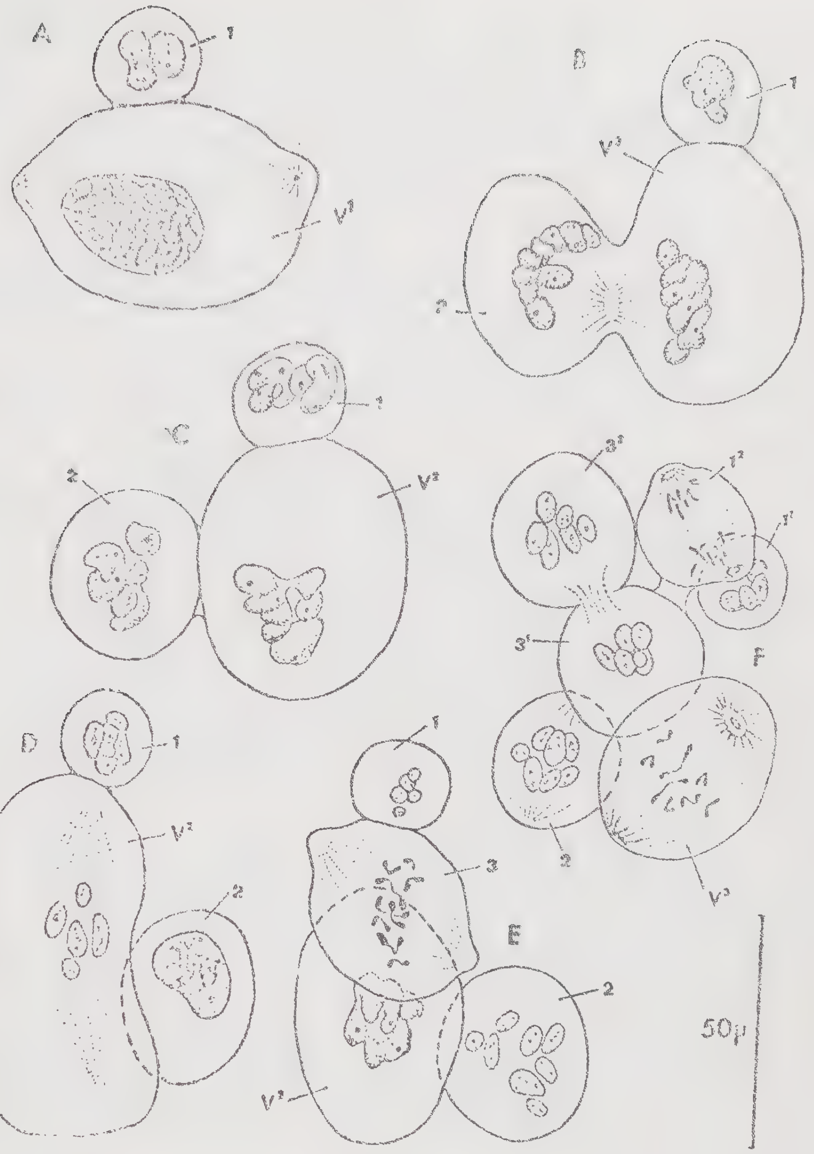


Fig. 8.- Segmentation de Polycystis nägelii.
A : stade 2. - B et C : formation du stade 3. - D et E : formation du stade 4. - F : stade 6.
Pour la numérotation des blastomères, voir texte p. 92.

côte à côte des embryons disemblables, alors qu'ils possèdent le même nombre de blastomères.

Les rares embryons à sept cellules, résultant d'un retard de la division du micromère 1, sont composés des blastomères suivants : 1, 2^1, 2^2, 3^1, 3^2, 4 et V^4. Les embryons au stade 8 n'en diffèrent que par la séparation de 1^1 et 1^2.

2 - Divisions conduisant au stade 12.

Après le stade 8 qui marque un arrêt dans le cours du développement, survient une nouvelle vague mitotique qui intéresse les cellules 1^1, 3^1, 3^2 et V^4.

L'orientation des fuseaux de division des blastomères 3^1 et 3^2 est perpendiculaire à l'axe polaire et les deux cellules qui se forment ainsi très rapidement aboutissent à la mise en place d'un stade à dix cellules. En raison de l'orientation de ces clivages, l'embryon constitué jusque-là par une seule file de blastomères, tend à prendre une forme discoïde.

Le fuseau de division du blastomère 1^1 est longitudinal. La caryocinèse et le cloisonnement des cellules filles ne se réalisent que très lentement.

Enfin, le macromère V^4 subit une équipartition donnant deux blastomères, 5 et 6 qui se disposent perpendiculairement au plan formé par l'ensemble des cellules 3^{11}, 3^{12}, 3^{21}, et 3^{22} individualisées peu de temps auparavant.

Parvenu au stade 12, l'embryon se trouve bloqué pendant quelque temps avant l'apparition d'une nouvelle vague mitotique.

3 - Formation de la morula.

Les crises mitotiques qui se succèdent ensuite intéressent simultanément la plupart des blastomères, ce qui rend leur analyse délicate. Ainsi se constituent des stades 16 à 20 cellules, comprenant 5 blastomères plus gros que les autres et disposés en ligne. Ce sont respectivement les blastomères 3^{11}, 3^{21}, 4, 5 et 6, autour desquels sont rassemblées les autres cellules embryonnaires.

A partir du stade 16, on observe en outre la formation de petits blastomères abortifs, appelés à dégénérer en peu de temps. De plus, l'embryon qui jusque-là s'est accru par la simple adjonction de nouveaux blastomères,

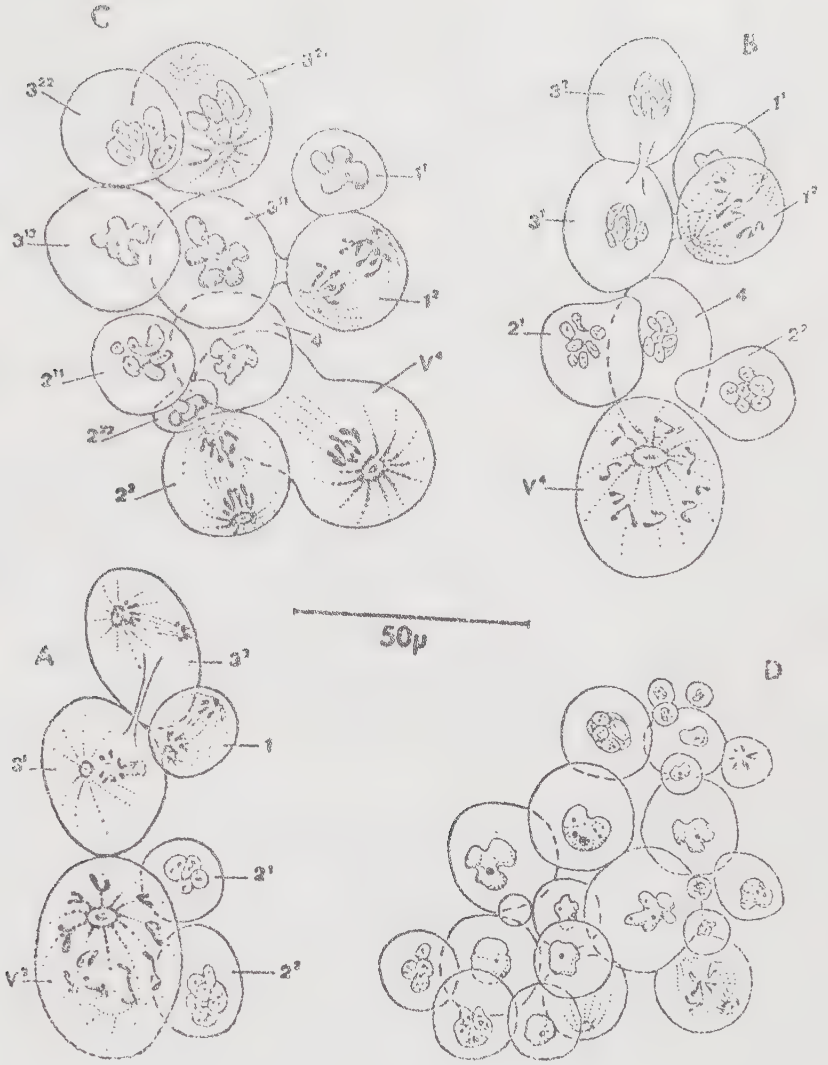


Fig. 9.- Segmentation de Polycystis nägelii.
A : stade 6. - B : stade 8. - C : formation du stade 12. - D : jeune morula.
Pour la numérotation des blastomères, voir texte p. 92.

se déforme en se recourbant sur lui-même.

Cependant, les vagues mitotiques se poursuivent et les blastomères formés se ressemblent de plus en plus. Ils se groupent en une masse cellulaire de forme irrégulière et les divisions continuent encore jusqu'à ce que la morula compte 80 à 100 cellules.

II. - FORMATION DE L'EMBRYON.

A. - EVOLUTION DE LA MASSE VITELLINE.

Après la formation du cocon, les cellules vitellines qui constituent quantitativement l'essentiel de son contenu, n'évoluent que lentement durant toute la segmentation. Aucun des vitellocytes ne se différencie en une enveloppe embryonnaire comme c'est le cas chez certains Mesostomides. C'est donc au sein d'une masse commune de cellules vitellines que se divisent les embryons et ils ne s'individualiseront les uns des autres qu'à un stade plus tardif.

Au tout début de la segmentation, les embryons et les cellules vitellines occupent la totalité du volume du cocon et leur cohésion est assurée uniquement par les parois de celui-ci. L'ouverture d'un cocon pondu depuis moins de 24 heures libère les embryons et les cellules vitellines qu'il est facile d'isoler sous la loupe binoculaire. Mais dès qu'est dépassé le stade 6 blastomères, il n'est plus possible d'isoler les embryons adhérents aux cellules vitellines qui les entourent. Il est intéressant de préciser que ce phénomène d'adhérence est strictement localisé aux cellules vitellines qui sont en contact direct avec les blastomères. Sur les coupes histologiques, les membranes des vitellocytes restent parfaitement nettes et distinctes. Il y a donc vraisemblablement un accolement très étroit entre les membranes cellulaires des blastomères et celles des vitellocytes, accolement qui pourrait résulter d'un passage des substances vitellines vers les cellules embryonnaires.

Par ailleurs, depuis les premères étapes du développement embryonnaire, les blastomères se multiplient sans cesse et occupent certainement à la fin de la segmentation un volume plus considérable que celui de l'oeuf

fécondé. Cependant, l'examen des coupes histologiques met en évidence une certaine contraction de l'ensemble du contenu cellulaire qui se décolle alors largement de la coque ovigère. Cette contraction ne peut s'expliquer que par une réduction du volume des cellules vitellines dont la taille diminue effectivement de manière sensible.

La conjonction des deux phénomènes précédents va aboutir finalement à la fragmentation du contenu du cocon. Celle-ci se réalise autour de chaque embryon auquel se joignent toutes les cellules vitellines adjacentes, si bien qu'en définitive la masse vitelline se découpe en un certain nombre de territoires indépendants qui entourent chacun des embryons. Au début, la séparation entre les territoires embryonnaires voisins n'est pas complète ; elle se réalise progressivement par l'éloignement réciproque de ces territoires. Les quelques cellules vitellines qui n'ont pas été annexées à l'un de ceux-ci dégénérent rapidement.

B. - MISE EN PLACE DES EBAUCHES EMBRYONNAIRES.

En même temps que se fait le découpage de la masse vitelline, les cellules embryonnaires manifestent une tendance à migrer et à coloniser l'ensemble du territoire embryonnaire qui s'est individualisé. Cette progression se réalise de deux façons différentes :

- soit par migration cellulaire active ; les blastomères en déplacement progressent grâce à des expansions amoeboïdes de leur cytoplasme qui s'insinue ainsi entre les cellules vitellines voisines ;
- soit par des divisions cellulaires orientées constituant peut à peu des rangées de blastomères qui s'enfoncent au sein du vitellus environnant.

Très rapidement, l'embryon dont les blastomères formaient une morula relativement cohérente jusque-là va apparaître constitué par un mélange inextricable de blastomères et de cellules vitellines, dans lequel il est totalement impossible de suivre les filiations cellulaires, d'autant plus que toutes les cellules embryonnaires ont des tailles comparables à ce stade du développement.

Un petit nombre de blastomères parviennent ainsi à la périphérie du territoire embryonnaire avant tous les autres et ils s'y différencient en s'aplatissant pour constituer une membrane embryonnaire très mince. Ces

blastomères particuliers se distinguent très rapidement des autres cellules par leur noyau clair, lenticulaire et très aplati. La membrane embryonnaire ne joue aucun rôle dans le découpage de la masse vitelline qui s'est réalisé antérieurement. D'autre part, au sein du territoire embryonnaire, la migration des blastomères jusque-là anarchique tend à prendre une allure régulière et orientée ; la multiplication est à peu près achevée à ce stade et les cellules embryonnaires migrent activement vers la périphérie. Au bout de quelque temps, tous les blastomères parviennent sous la membrane embryonnaire formée auparavant.

A la suite de ce déplacement, les blastomères se regroupent en trois massifs cellulaires d'inégale importance : deux grosses ébauches paires, symétriques et de forme triangulaire séparées par un étroit espace sagittal et une troisième ébauche médiane située en arrière des précédentes. Au moment où elles se mettent en place, les cellules embryonnaires sont toutes identiques, à noyau ovalaire de 5 à 6 µ de long et à cytoplasme peu abondant.

A partir des deux ébauches antérieures qui vont fusionner rapidement se constitueront l'épithélium tégumentaire, les ganglions cérébroïdes et la trompe du futur animal. L'ébauche moyenne va se développer également en donnant un massif cellulaire à peu près sphérique qui se différenciera en pharynx.

III. - ORGANOGENESE.

A. - TEGUMENT.

Quelques temps après la formation des blastèmes, un certain nombre de cellules périphériques des ébauches antérieures viennent se placer le long de la membrane embryonnaire qui enveloppe l'embryon et son vitellus. Au début, ces cellules apparaissent surtout à la face ventrale des ébauches qui sont très proches de la membrane embryonnaire à cet endroit. Mais peu à peu elles s'observent également dans toute la région antérieure de l'embryon ; à partir de là, elles progressent vers l'arrière sur le dos

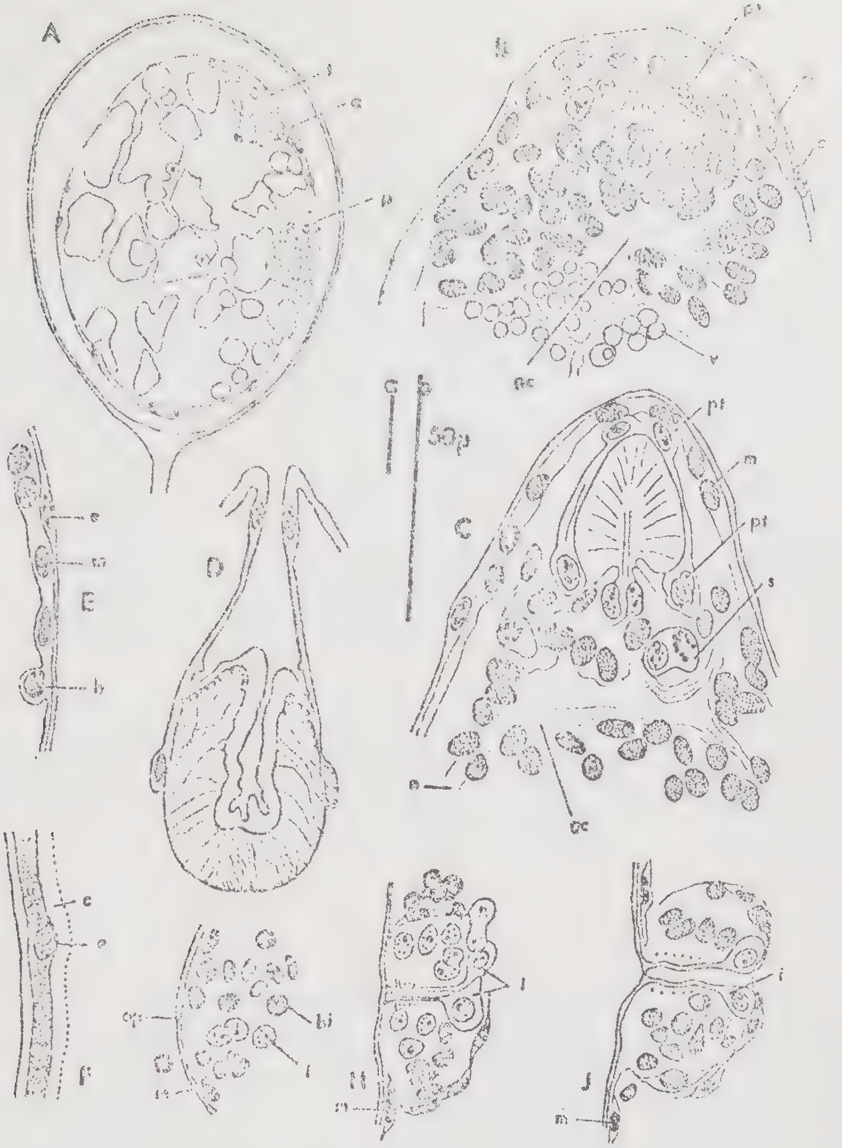


Fig. 10.- Embryogenèse et organogenèse de Polycystis nägelii.

A : Formation des blastèmes embryonnaires. - B, C et D : trois étapes de la formation de la trompe. - E et F : Formation de l'épithélium tégumentaire. - G, H et J : trois étapes de la formation du pharynx.

a : un des blastèmes antérieurs ; b : blastomère en train de se différenciés en myoblaste tégumentaire ; bl : blastomère indifférencié ; c : ciliature épidermique ; e : noyau de l'épithélium tégumentaire ; ep : épithélium tégumentaire ; gc : ganglions cérébroïdes ; i : épithélium interne du pharynx ; m : myoblaste du tégument ; n : nerf latéral ; p : ébauche pharyngienne ; pt : épithélium de la poche de la trompe ; s : cellule sensorielle ; t : ébauche de la trompe. Echelle a valable pour la fig. A, b pour les figs. B à J.

et sur les côtés. La mise en place de ces cellules est infiniment plus rapide sur la face ventrale et le long des flancs où elles suivent de près la formation de l'ébauche du tronc nerveux latéral, que sur le dos qui en reste longtemps dépourvu ainsi que l'extrémité caudale. Peu à peu, les noyaux épithéliaux prennent une forme ovalaire plus allongée tandis que leur cytoplasme s'étale et différencie des myofibrilles.

Dans le même temps, la membrane embryonnaire formant jusqu'alors une pellicule très étroite à noyaux saillants, s'épaissit progressivement, finit par atteindre 3 à 4 μ d'épaisseur et constitue l'épithélium tégumentaire. La différenciation de ce dernier va de pair avec celle de la musculature et progresse également de l'avant vers l'arrière et du ventre vers le dos.

L'apparition de la ciliature est plus tardive et précède l'éclosion de quelques jours seulement. Les embryons ciliés sont mobiles à l'intérieur du cocon dans lequel ils tournent incessamment les uns sur les autres.

B. - GANGLIONS CEREBROIDES.

Après leur formation, les deux ébauches antérieures ne comprennent que des cellules indifférenciées, toutes identiques entre elles. C'est en plein milieu de chacune de ces ébauches qu'apparaît tout d'abord une petite zone claire constituée par les premières fibres nerveuses. Les cellules qui leur ont donné naissance sont indicernables des autres blastomères de l'ébauche. La croissance de ces fibres nerveuses se faisant de l'extérieur vers l'intérieur, elles se rapprochent de plus en plus du plan sagittal du futur animal où elles se rejoignent bientôt. Les ganglions cérébroïdes se trouvent ainsi formés par la fusion de deux ébauches symétriques paires. Par la suite, le nombre de fibres nerveuses augmentant, le volume des ganglions s'accroît également.

Les principaux troncs nerveux s'individualisent très tôt : deux paires d'égale importance et dirigées vers l'avant apparaissent sur la face antérieure du cerveau au sein même des cellules embryonnaires ; en revanche, sur les flancs de l'embryon, une migration rapide de plusieurs blastomères provenant des ébauches antérieures aboutit à la formation d'un cordon cellulaire longitudinal allongé vers l'arrière jusqu'à mi-corps et au milieu duquel apparaitront les fibres du futur tronc nerveux latéral.

Les taches oculaires apparaissent également parmi les cellules des blastèmes antérieurs. Les cellules sensorielles se chargent de granules mélaniques qui s'accumulent dans le cytoplasme puis s'y organisent en cupules pigmentaires. Les fibres des nerfs optiques ne se mettent en place que lorsque les taches oculaires ont acquis leur structure définitive.

C. TROMPE.

La formation de cet organe particulier aux Calyptorhynques se réalise à un stade étonnamment précoce. Au moment où se fait la jonction des deux ébauches ganglionnaires et où s'organisent les cellules de la musculature tégumentaire, quelques blastomères se regroupent un peu en avant des ébauches antérieures dont ils proviennent.

Au sommet de ce petit massif se placent quatre cellules dont le cytoplasme très dense, d'abord régulièrement réparti autour des noyaux, s'étire en lame. Au bout de quelques temps, les bords de ces cellules s'afrontent et leur ensemble constitue ainsi une sorte de paroi interne qui dessine peu à peu une protubérance convexe à l'avant. Les noyaux de ces cellules s'éloignent alors les uns des autres ; deux d'entre eux restent au sommet de la protubérance tandis que les deux autres légèrement plus volumineux progressent vers l'arrière jusqu'à la base de la trompe en l'enveloppant latéralement d'une lamelle épaisse d'apparence déjà épithéliale. Par la suite, le caractère épithélial de ces cellules va s'affirmer ; les noyaux des cellules antérieures prennent une forme elliptique très applatie tandis que les membranes cellulaires se délaminent en une couche externe et une couche interne recouvrant d'une fine membrane le sommet de l'ébauche de la trompe. La cavité de la poche de la trompe reste virtuelle et, à ce stade, ne communique pas encore avec l'extérieur.

Un peu avant l'éclosion, la poche de la trompe s'allonge d'une façon assez considérable et la lame externe de son épithélium vient se souder à l'épithélium tégumentaire de l'extrémité antérieure du corps. Pendant longtemps, l'orifice de cette poche est obturé par l'épithélium corporel et il ne s'ouvre qu'au moment où ce dernier se couvre de cils.

Pendant ce temps, au sein du cytoplasme des blastomères qui constituent l'ébauche de la trompe, apparaissent des fibrilles musculaires longitudinales qui occupent progressivement tout le volume de l'organe.

Quelques cellules situées à la base de l'ébauche se différencient à leur tour en fibres musculaires motrices de la trompe.

Par la suite, l'épithélium qui recouvre la trompe s'épaissit considérablement et se différencie de celui de la poche qui reste très mince. D'autre part, les fibrilles musculaires longitudinales ne restent pas isolées mais s'associent pour constituer des muscles importants surtout dans la partie basale de la trompe et dans le cône terminal libre (Endkegel, des auteurs allemands). De plus, des fibrilles musculaires circulaires apparaissent progressivement, de la base vers le sommet.

A l'éclosion, la trompe du jeune Polycystis est à sa taille près, analogue à celle de l'adulte ; elle est même proportionnellement plus volumineuse que chez l'adulte.

D. - PHARYNX.

1 - Formation de l'ébauche pharyngienne.

Le blastème pharyngien se constitue plus tardivement que les deux blastèmes antérieurs de l'embryon et son évolution suit de près la mise en place des premiers myoblastes tégumentaires. Au centre du blastème, parmi les blastomères indifférenciés, une cellule se distingue par son cytoplasme éosinophile et son gros noyau nucléolé à caryolymphe claire. Par une suite rapide de divisions successives, elle forme un massif interne de cellules différenciées qui occupent finalement toute la partie centrale du blastème, refoulant les blastomères le long des parois latérales et dorsales de l'ébauche pharyngienne.

2 - Formation du canal pharyngien.

Après s'être étirées le long de l'axe ventrodorsal de l'ébauche, ce qui les fait entrer en contact par leur extrémité ventrale avec la membrane embryonnaire contre laquelle elles s'appliquent, les cellules du massif interne se différencient en épithélium. Une cavité se forme au milieu du massif épithélial, par délamination des membranes cellulaires ; elle s'allonge rapidement d'un bout à l'autre du massif et préfigure la lumière

interne du pharynx. A la fin de la période embryonnaire, la partie ventrale de ce canal pharyngien s'élargit pour constituer la poche qui se développe autour de l'extrémité ventrale du pharynx. Le percement de la bouche précède de peu l'éclosion mais auparavant, la musculature tégumentaire forme un important sphincter buccal.

3 - Différenciation de la paroi pharyngienne.

Pendant la formation de l'épithélium interne du pharynx, les blastomères indifférenciés de l'ébauche se trouvent repoussés autour du canal pharyngien.

Les blastomères situés à la périphérie du blastème s'aplatissent et forment une paroi membraneuse enveloppant presque complètement l'ébauche du pharynx qui ne mesure pas plus de 50 µ de diamètre. Les autres blastomères qui se différencient presque tous en myoblastes sont refoulés par l'élargissement progressif du canal pharyngien. La musculature radiaire du pharynx se différencie la première, de la partie ventrale à la partie dorsale de l'organe. Apparaît ensuite la musculature externe et enfin la musculature circulaire interne. Cette dernière se différencie tout d'abord à l'extrémité postérieure de l'organe où elle constitue un sphincter assez important, puis dans partie antérieure au niveau où le pharynx est libre dans la poche de la trompe ; elle y forme aussi un sphincter. Cette musculature circulaire interne se complète progressivement au cours du développement postembryonnaire. Un renflement annulaire interne se dessine ensuite, rétrécissant la lumière du pharynx au niveau de sont tiers antérieur, là où se différenciera ultérieurement un sphincter interne. Le canal pharyngien paraît ainsi composé de deux tronçons successifs dont l'un antérieur communique avec la poche pharyngienne et constitue une sorte de vestibule en arrière duquel le canal pharyngien s'élargit pour se rétrécir encore au niveau de l'orifice oesophagien.

Au même moment, quelques blastomères constituent les glandes intrapharyngiennes qui se développent surtout après l'éclosion. Un certain nombre de blastomères de la région ventrale et postérieure de l'ébauche restent à l'écart lors de la formation de la paroi pharyngienne. Ces blastomères se différencient ultérieurement en myoblastes et constituent la musculature motrice du pharynx. A la fin de la vie embryonnaire, le pharynx atteint 100 à 150 µ de long sur environ 80 de large.

4 - Formation de la cavité oesophagienne.

Lors de sa formation, le canal oesophagien vient se souder à la membrane qui limite le blastème pharyngien. La poche oesophagienne s'accroît ensuite par la délamination dorsale de la paroi du pharynx. Les cellules oesophagiennes glandulaires se différencient pendant l'embryogenèse et forment une sorte de bouchon à l'extrémité du canal pharyngien, mais l'intestin ne se développe pas.

E. - PARENCHYME.

Les cellules du parenchyme apparaissent quelques jours avant l'éclosion. Elles ont, comme chez l'adulte, une taille considérable et renferme un gros noyau nucléolé à caryolymphe optiquement vide mais elles ne contiennent pas encore la masse des granules mélaniques d'1 à 2 µ de diamètre qui les caractérisent par la suite, de sorte que les animaux qui viennent d'éclore sont transparents.

F. - ORGANES GENITAUX.

Dans les jours qui précèdent l'éclosion, des blastomères migrent en arrière du pharynx pour former le blastème génital qui compte une cinquantaine de cellules.

IV. - ANATOMIE DE L'ANIMAL A L'ECLOSION.

A la fin de leur développement embryonnaire, les embryons restent encore plusieurs jours à l'intérieur du cocon. Finalement, sous la poussée des jeunes qui s'agitent à l'intérieur, le cocon se fend et l'ouverture ainsi pratiquée s'élargit par fragmentation de la paroi. C'est presque toujours au pôle opposé à l'insertion du pédoncule que cède la paroi du cocon et l'orifice ainsi pratiqué a toujours une forme très irrégulière.

Les jeunes animaux s'échappent alors en nageant activement ; ils sont blanchâtres, translucides et de longueur variable ; ils mesurent en effet de 300 à 500 µ de long sur un peu plus de 10 µ de large.

Leur corps est totalement revêtu d'un épithélium tégumentaire dont l'épaisseur est de 3 à 4 µ. A cause de leur taille légèrement supérieure, les noyaux épithéliaux ovoïdes sont plus ou moins saillants à l'extérieur. La musculature tégumentaire est déjà en place à ce stade et comporte, comme chez l'adulte, les trois couches de fibres musculaires : circulaires obliques et longitudinales. La ciliature épithéliale, dont la hauteur atteint 4 à 5 µ, est complète et recouvre toute la surface externe du jeune animal.

La mise en place des ganglions cérébroïdes et des principaux troncs nerveux se réalise tout au début de l'organogenèse et se poursuit durant une bonne partie de la vie embryonnaire. Dès l'éclosion, les structures nerveuses sont en place et elles n'évoluent guère par la suite.

A l'éclosion, la trompe de P. nägelii a pratiquement acquis sa structure définitive, mais sa croissance n'est pas terminée contrairement à celle des ganglions cérébroïdes dont le développement cesse totalement à la fin de la vie embryonnaire. Chez les jeunes animaux qui viennent de sortir du cocon, elle mesure déjà de 70 à 100 µ, ce qui représente approximativement le tiers ou le quart de la longueur totale du corps ; comme j'ai pu m'en assurer elle est fonctionnelle à ce stade et j'ai observé des tentatives de captures de nauplii de Copépodes par des jeunes éclos quelques heures auparavant.

Le pharynx est bien constitué au moment de l'éclosion, et il communique avec l'extérieur par une poche pharyngienne courte où s'est ouvert l'orifice buccal à la fin de la période emmbryonnaire. Juste avant l'éclosion le pharynx qui jusque-là ne mesure guère plus de 40 à 50 µ de diamètre moyen, augmente brutalement de volume si bien qu'il atteint alors 120 X 180 µ. Au terme de l'organogenèse embryonnaire, le pharynx apparaît comme un organe irrégulièrement sphérique, percé d'une lumière centrale et tapissé par un épithélium en continuité avec celui de la poche pharyngienne. A ce stade, les fibres musculaires radiaires sont bien constituées. Peu de temps avant l'éclosion, se différencient les musculatures circulaire externe et circulaire interne, ainsi que les glandes intrapharyngiennes.

Les cellules oesophagiennes ont amorcé leur spécialisation glandulaire. Elles forment une sorte de bouchon au pôle dorsal du pharynx où la cavité oesophagienne très réduite ne s'est pas encore développée pour former l'intestin.

Un rassemblement des blastomères un peu en arrière du pharynx est à l'origine du blastème génital qui se constitue très tardivement, juste avant l'éclosion.

La moitié postérieure du corps est partiellement remplie par un reste de vitellus non utilisé. Un parenchyme encore dépourvu de pigment emballe tous les organes.

V. - ORGANOGENESE POSTEMBRYONNAIRE.

Les jeunes Polycystis possèdent encore une petite quantité de vitellus au moment où ils s'échappent du cocon, et ils ne se nourrissent pas durant les premiers jours. La poche oesophagienne est toute petite à l'éclosion où elle est limitée par les cellules glandulaires de l'oesophage ; elle augmente de volume en quelques jours et permet à l'animal de s'alimenter. Celui-ci se nourrit surtout de petits nauplii de Copépodes qui sont capturés à l'aide de la trompe, de la même manière que chez l'adulte.

Il est important de remarquer que l'édification et l'évolution des différents organes ne sont pas identiques chez tous les individus examinés et que ces phénomènes paraissent se réaliser indépendamment les uns des autres.

A l'éclosion, la longueur des jeunes P. nägelii peut varier entre 0,2 et 0,6 mm, la plupart mesurant de 0,4 à 0,5 mm. En dépit de leurs différences de taille assez considérables, les individus provenant d'un même cocon évoluent de manière à peu près synchrone ; ils sont tous à un stade de développement comparable, sauf les plus petits qui présentent un certain retard qu'il faut attribuer vraisemblablement au nombre de blastomères insuffisant pour assurer simultanément le développement normal des différents organes.

Il est difficile d'apprécier avec précision l'accroissement de taille des jeunes Polycystis nägelii, faute de structures anatomiques non déformables suceptibles de mesures. Il est facile de constater en effet que même la mensuration qui paraît la plus précise, celle de l'espace séparant les deux taches oculaires, peut varier dans des proportions importantes suivant le degré de compression de l'animal. Dans ces conditions, il est illusoire de chercher à chiffrer avec exactitude la croissance linéaire

des jeunes Turbellariés, et je me suis contenté de mesurer leur longueur totale après une compression juste suffisante pour les empêcher de se déplacer. Ces mesures ont été effectuées à chaque fois sur une quinzaine ou une vingtaine d'individus en excluant les exemplaires les plus gros et les plus petits ; elles fournissent donc un ordre de grandeur "moyen" de l'accroissement postembryonnaire de P. nägelii. Il est d'ailleurs vraisemblable que le développement normal de l'espèce se réalise plus rapidement qu'en élevage où les conditions sont habituellement plus défavorables que celles du milieu naturel. La température joue aussi un rôle important sur le rythme du développement : les animaux étudiés en élevage ont été placés à 15-18° C, ce qui correspond à peu près aux températures moyennes estivales de l'eau de mer dans la région de Roscoff (Faure, 1959 ; Grall et Jacques, 1964). A ces températures, l'animal qui atteint près de 0,5 millimètre à l'éclosion, mesure 0,6 mm une semaine plus tard, à peu près 0,75 mm au bout de 15 jours et 1 mm un mois après sa sortie du cocon.

A. - TEGUMENT.

A la fin du développement embryonnaire, le tégument de Polycystis nägelii est constitué par une assise de cellules épithéliales aplaties et une musculature tégumentaire bien développée.

Dans les jours qui suivent l'éclosion, le cytoplasme des cellules épithéliales qui était jusqu'alors parfaitement homogène prend progressivement un aspect vacuolaire. Cette modification s'accompagne d'un épaississement assez considérable de l'épithélium qui au bout de trois semaines à un mois atteint 8 à 10 µ de hauteur comme chez l'animal adulte. Les vacuoles des cellules épidermiques se multiplient durant toute cette période et augmentent de volume en occupant toute la hauteur de l'épithélium. En même temps l'aspect des noyaux épithéliaux évolue ; les filaments chromatiques enchevêtrés qui occupaient toute la cavité nucléaire au moment de l'éclosion se condensent à la périphérie du noyau tandis qu'apparaît un nucléole volumineux. La ciliature persiste chez l'adulte sans se modifier.

Les muscles rétracteurs tégumentaires, mis en place peu de temps avant l'éclosion sous forme de fibres grêles, s'épaississent considérablement à partir de la seconde semaine de vie postembryonnaire, et elles prennent rapidement une importance comparable à celle qu'elles possèdent chez l'adulte.

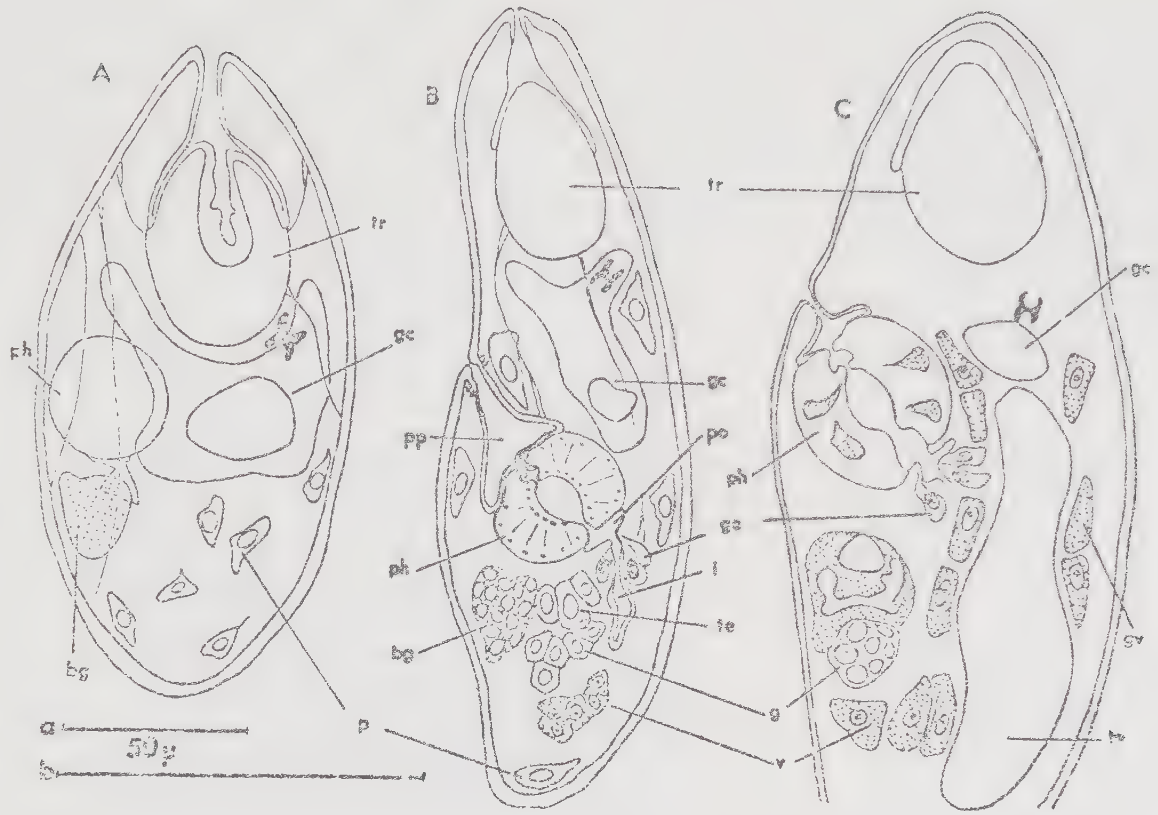


Fig. 11.- Développement postembryonnaire de <u>Polycystis nägelii</u>.
A : jeune à l'éclosion. - B : animal de 15 jours. - C : animal d'un mois.

bg : ébauche génitale ; g : germigène ; gc : ganglions cérébroïdes ; go : glandes oesophagiennes ; gv : vitellogène ; i : intestin ; p : cellule du parenchyme ; ph : pharynx ; po : poche oesophagienne ; pp : poche pharyngienne ; te : testicule ; tr : trompe ; v : cellule vitelline.

Echelle a valable pour la fig. A ; b pour les figs. B et C.

B. GANGLIONS CEREBROIDES.

Dès la fin de la période embryonnaire, ils sont en place et ne subissent que peu de modifications par la suite. Les taches oculaires apparues quelques temps avant que l'embryon sorte du cocon, continuent seules à se développer. En revanche, les ganglions cérébroïdes n'augmentent plus de volume, ni par accroissement des fibres nerveuses, ni par multiplications des noyaux des neurones. Ainsi, les ganglions cérébroïdes qui, à l'éclosion, constituent l'organe le plus important, perdent peu à peu leur prééminence en raison du développement progressif des autres parties de l'animal.

C. - TROMPE.

Sa croissance est relativement lente : à l'éclosion, elle mesure de 70 à 100 μ de long ; une dizaine de jours plus tard, elle atteint 100 à 120 μ et au bout d'un mois, elle dépasse 150 μ. Durant cette période, s'achève la différenciation des fibres circulaires et des muscles moteurs de la trompe. Au tout début de la période postembryonnaire, la trompe coincée entre l'extrémité antérieure de l'animal et les ganglions cérébroïdes, possède une poche très courte. A partir de la troisième semaine environ, la partie tout à fait antérieure de l'animal s'allonge assez considérablement en provoquant l'étirement des parois de la poche de la trompe et l'élongation d'une partie des muscles moteurs de cet organe, qui se trouve ainsi progressivement repoussé vers l'arrière du corps.

D. - APPAREIL DIGESTIF.

Ayant acquis sa forme définitive à la fin de la période embryonnaire, le pharynx se complète par l'apparition successive des fibres musculaires longitudinales et par la différenciation des glandes intra-oesophagiennes qui vont prendre une importance de plus en plus considérable. Pendant la croissance postembryonnaire, ses dimensions ne varient pratiquement pas, en dépit de l'accroissement assez considérable de la taille des animaux. Chez l'adulte, cet organe atteint environ 250 X 200 μ, soit environ le double de ses dimensions au moment de l'éclosion.

A l'éclosion, l'intestin est encore inexistant et l'orifice oesophagien très étroit est obturé le plus souvent par un bouquet de quelques cellules glandulaires en voie de différenciation. Durant la semaine qui suit l'éclosion, la cavité oesophagienne s'élargit en repoussant les glandes oesophagiennes, puis s'accroît vers l'arrière constituant ainsi l'intestin. Rapidement mis en place, ce dernier devient fonctionnel 10 à 15 jours après l'éclosion. Son extension se poursuit encore tandis que sa paroi s'épaissit et qu'il différencie de place en place des cellules glandulaires digestives.

E. - PARENCHYME.

Les cellules parenchymateuses apparues à la fin de la période embryonnaire, possèdent déjà presque toutes les caractéristiques qu'elles présentent ensuite chez l'adulte. Au cours du développement postembryonnaire, elles se multiplient activement et viennent occuper tous les espaces libres à l'intérieur de l'animal, en particulier à l'extrémité caudale, dans la région dorsale et autour de la base de la trompe.

Ces cellules ne sont pas pigmentées au début de la vie postembryonnaire et l'animal fraîchement éclos est incolore et transparent. Les granules mélaniques qui mesurent de 1 à 2 µ de diamètre n'apparaissent qu'une quinzaine de jours après l'éclosion.

F. - ORGANES GENITAUX.

1 - Formation de l'ébauche génitale.

A la fin de la période embryonnaire, des blastomères se rassemblent en arrière du pharynx en un blastème génital dont toutes les cellules ont encore un aspect indifférencié, excepté les initiales des vitellogènes localisées sur les côtés de l'ébauche et dont le cytoplasme se colore intensément par l'éosine.

Lorsque l'embryon a quitté le cocon, un certain nombre de blastomères situés entre les initiales vitellines et la partie postérieure du pharynx s'accroissent à leur tour aussi bien par leur cytoplasme qui reste transparent que par leur noyau sphérique à contenu clair. Par leurs proliférations ultérieures ces cellules vont engendrer les testicules.

En arrière des cellules vitellines primordiales, cinq à six autres blastomères se différencient : l'augmentation du volume nucléaire réduit le cytoplasme à une étroite frange périphérique. Très rapidement, ces cellules se regroupent en une série linéaire qui réalise l'ébauche de chaque germigène.

Cependant, la grande majorité des blastomères rassemblés dans l'ébauche germinale, restent indifférenciés et tendent à se rassembler dans sa partie ventrale. Après environ quinze jours de vie postembryonnaire, ces blastomères se regroupent en un blastème bien délimité mesurant 50 µ de diamètre moyen et localisé ventralement dans le plan sagittal, un peu en arrière du pharynx. A partir de cet amas cellulaire encore non structuré, se réaliseront ultérieurement toutes les annexes génitales mâles et femelles.

2 - Différenciation des testicules.

Au cours des troisième et quatrième semaines qui suivent l'éclosion, les testicules s'allongent latérodorsalement, tout d'abord vers l'avant sur les côtés du pharynx jusqu'au niveau des ganglions cérébroïdes, ensuite vers l'arrière où ils atteignent presque l'extrémité caudale. Leur forme est celle d'un cylindre régulier, plus ou moins effilé à chaque extrémité et une membrane épithéliale enveloppe complètement chacun des testicules encore dépourvu de canal déférent. La multiplication très active des initiales germinales mâles produit de nombreuses spermatogonies qui évoluent pour la plupart en spermatocytes I, à partir du début de la quatrième semaine.

3 - Différenciation des germigènes.

Les germigènes qui se forment à partir des initiales germinales les plus postérieures rassemblées en une petite ébauche arrondie ne se développent pas durant la période postembryonnaire. Leurs initiales germinales n'ont pas entrepris la moindre différenciation avant quatre ou cinq semaines, alors que les figures de méïose sont déjà très abondantes dans l'ovaire.

4 - Différenciation des vitellogènes.

Les cellules vitellines primordiales se sont multipliées à plusieurs reprises, si bien qu'on en compte une dizaine de chaque côté de l'animal

où elles s'alignent les unes derrière les autres, latéralement sous chaque testicule. A ce stade, elles sont déjà bien plus volumineuses que les cellules banales mais conservent encore un cytoplasme extrêmement éosinophile qui caractérise les stades embryonnaires et juvéniles. Bien que la différenciation des initiales vitellines se produise d'une façon précoce au cours du développement embryonnaire, le vitellogène est le dernier organe à se constituer. Même à ce niveau de développement, le vitellogène n'a pas encore acquis la totalité de ses fonctions physiologiques. En effet, à côté du rôle de réserve trophique représenté par les inclusions éosinophiles que contient son cytoplasme, la cellule vitelline n'élabore pas encore les globules vitellins renfermant les matériaux indispensables à la constitution du cocon. Or cette différenciation cytoplasmique des cellules vitellines ne survient pas avant la quatrième semaine de vie postembryonnaire et apparaît d'ailleurs progressivement sous la forme de plages irrégulières au sein du cytoplasme vitellin encore éosinophile. Il est intéressant de noter à cette occasion que toutes les cellules vitellines, même celles qui ont à peine commencé leur différenciation, prennent brusquement une affinité nouvelle pour les laques d'hématoxyline. L'acquisition de ce caractère tinctorial n'est donc pas lié à un état de maturité des cellules vitellines mais à une étape physiologique du développement des jeunes Polycystis. Les individus doivent parvenir à un certain stade d'évolution pour être capables de synthétiser et de mettre en réserve dans leurs cellules vitellines, les substances indispensables à l'élaboration des globules vitellins.

5 - Formation de l'atrium et des annexes génitales.

C'est également à partir de la quatrième semaine de la vie postembryonnaire que se mettent en place les organes du tractus génital, provenant de la différenciation du blastème ventral post-pharyngien. Ce dernier, encore composé de cellules indifférenciées, se creuse dans sa partie postérieure d'une cavité qui s'allonge rapidement et se recourbe dorsalement et vers l'avant de l'animal. Ainsi se constitue le futur atrium génital commun puis l'atrium génital mâle.

Ensuite, se réalise d'une façon extrémement rapide la vésicule prostatique qui se forme à partir des cellules de la région dorsale et antérieure du blastème post-pharyngien. Ces cellules qui évoluent en myoblastes

s'organisent en une masse ovoïde à paroi musculaire. En même temps, toutes les cellules ventrales du blastème se différencient progressivement en cellules glandulaires et viennent se souder à l'extrémité ventrale de la vésicule prostatique, par leur pôle excréteur qui s'allonge de manière considérable.

Le creusement de la vésicule prostatique se réalise un peu plus tard, ainsi que la formation de la pièce cuticulaire qui la prolonge.

Pendant ce temps là, les blastomères indifférenciés de la partie dorsale et postérieure du blastème se fusionnent en une masse syncytiale qui forme l'ébauche de la bourse copulatrice. Le canal qui relie la bourse à l'atrium génital commun se constitue par une évagination localisée de la paroi atriale, autour de laquelle s'organise rapidement la musculature caractéristique de ce conduit.

La formation de l'utérus se réalise également par une évagination digitiforme de la partie antérieure et ventrale de la paroi de l'atrium génital commun. Dès le début de sa formation, il se divise en deux parties séparées par un important sphincter musculaire : le canal proximal communiquant avec l'atrium génital et autour de laquelle se différencient les futures cellules glandulaires utérines, et une partie distale courte qui se développera ultérieurement.

En face de l'orifice de l'utérus, un diverticule court de la paroi postérieure de l'atrium, ramifié en deux conduits aboutissant aux germigènes, préfigure le canal ovovitellin et les oviductes.

Les canaux déférents apparaissent au voisinage de la vésicule prostatique au moment où celle-ci se constitue. A un stade bien plus avancé, ils se renflent pour former les vésicules séminales dont les parois se fusionnent ultérieurement avec celles des testicules, permettant ainsi le passag du sperme dans le tractus génital.

Le percement de l'orifice génital commun à la face ventrale de l'animal, de même que la communication entre les testicules et les vésicules séminales ne se produisent que six semaines après l'éclosion.

CHAPITRE VI.

DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE D'ACRORHYNCHIDES ROBUSTUS.

La capsule d'*Acrorhynchides robustus* a une forme assez variable, habituellement subsphérique, atteignant en moyenne 220 à 250 µ de diamètre mais parfois plus allongée et pouvant alors mesurer 50 µ de long sur 160 de large. Elle est fixée au substrat - grain de sable, fragment végétal, coquille d'*Hydrobia* - par un pédoncule recourbé, long d'une cinquantaine de µ et terminé par une plaque de fixation. La coque ovigère est très résistante, assez souple et élastique. Quelques heures après la ponte, elle est encore suffisamment transparente en dépit de sa coloration, pour permettre une observation directe du contenu de la capsule.

Les deux ovocytes sont localisés le long du grand axe passant par la zone d'insertion pédonculaire et le pôle opposé, à peu près à égale distance du centre et de la paroi du cocon. Les cellules vitellines ont une taille considérable ; elles sont à peine plus petites que les ovocytes et mesurent en moyenne 45 à 50 µ de long sur 30 de large. Leur noyau globuleux à caryolymphe dense et finement granuleuse, mesure environ 10 µ et contient un nucléole excentrique un peu plus sombre. En raison du volume important des cellules vitellines, chaque cocon en renferme seulement 120 à 150.

I. - SEGMENTATION (Fig. 12).

A. - OEUF INDIVIS.

Au moment de la ponte, les ovocytes visibles par transparence au travers de la coque ovigère ont environ 60 µ de long et 40 de large. Le noyau qui est central et volumineux renferme encore un nucléole. Chez cette espèce, la maturation se déroule peu de temps après l'expulsion des capsules

ovigères et les ovocytes présentent alors la particularité de s'allonger considérablement selon un axe qui correspond à peu près à l'axe polaire. Au cours de cet étirement, les ovocytes peuvent atteindre 60 à 70 µ de longueur, mais leur largeur tombe alors à 20 - 25 µ.

B. - PREMIERES ETAPES DE LA SEGMENTATION.

1 - Formation du stade 2.

Les figures les plus précoces qu'il m'a été possible d'étudier concernent la fin de la première division mitotique. A ce stade comme durant la maturation, le cytoplasme de l'oeuf est très allongé et présente un contour réniforme ; il mesure alors 60 à 65 µ de long sur environ 25 µ de diamètre moyen et le diamètre n'est d'ailleurs pas constant sur toute la longueur, le pôle animal étant légèrement moins renflé que le pôle végétatif.

A la télophase, les noyaux des deux cellules se reconstituent par le regroupement et la fusion progressive des caryomérites qui se forment à partir de chaque chromosome, à la fin de la division nucléaire. Les caryomérites du micromère se rassemblent dans le cytoplasme pariétal de l'oeuf, plus vite que ceux du macromère qui sont plus volumineux et occupent une position centrale. Un peu plus tard, se constitue le noyau du micromère ; il a environ 10 µ de diamètre moyen, une forme plus ou moins lobée et contient une chromatine peu abondante dispersée dans tout le volume nucléaire sous forme de fines granulations. Il ne semble pas que le noyau du macromère reprenne un état quiescent après la formation du micromère, car j'ai observé sur certaines coupes l'apparition du fuseau de la seconde division de segmentation et l'individualisation des chromosomes à partir des caryomérites avant même que se forme la membrane cytoplasmique entre les deux premiers blastomères.

En effet la séparation entre les deux premières cellules paraît se réaliser d'une façon très variable. Chez certains embryons, la membrane de séparation se met en place au moment où se constitue le noyau du micromère. Chez d'autres en revanche, cette membrane ne s'est pas encore individualisée alors que le noyau du micromère est de retour à l'état quiescent et que celui du macromère a même entamé déjà la prophase de sa seconde division.

Le micromère 1 subsphérique, mesure 15 à 20 µ de diamètre et l'axe passant par son point d'attache et le centre du mac omère est incliné de 20 à 30° par rapport à l'axe polaire.

2 - <u>Formation du stade 3.</u>

La seconde division de segmentation se réalise aussitôt après la formation du noyau du micromère et parfois même avant que la membrane cytoplasmique ne le sépare du macromère. Le second blastomère est à peine plus volumineux que le micromère et s'individualise non loin de ce dernier ; ses dimensions ne dépassent pas 30 µ de long sur 20 µ de large et son grand axe est oblique par rapport à l'axe polaire de l'oeuf qui coïncide donc jusqu'à ce stade avec l'axe de symétrie embryonnaire. L'apparition d'une membrane cytoplasmique entre le macromère V^2 et le blastomère 2 a lieu au moment où les caryomérites se rassemblent dans les deux cellules.

3 - <u>Formation du stade 4.</u>

La troisième division qui intéresse le macromère V^2 débute avant que son noyau ait repris une allure intercinétique. Cette fois, le fuseau se place perpendiculairement à l'axe de symétrie de l'embryon et le troisième blastomère s'individualise sur le flanc du macromère, presque à l'opposé de la zone d'insertion du second blastomère. Ce blastomère 3 a une forme et une taille comparables à celles du précédent, mais son grand axe est parallèle au plan de symétrie embryonnaire. Le macromère V^3 est encore la plus volumineuse de toutes les cellules embryonnaires, avec des dimensions de 40 µ sur 30.

4 - <u>Formation du stade 5.</u>

La quatrième division se déroule encore au niveau du macromère dont la partie postérieure tend à s'isoler par un cloisonnement très oblique. Un étirement assez considérable du macromère V^3 précède la division. Le blastomère 4 qui se constitue est un peu plus gros que les deux blastomères précédents puisqu'il mesure 30 à 40 µ de long sur 20 à 25 µ de large ; il reste néanmoins nettement plus petit que le macromère V^4 qui atteint encore près de 50 µ de longueur sur 25 à 30 µ de largeur. Dès que la membrane intercellulaire se met en place, le noyau du blastomère 4 se reconstitue en formant une volumineuse vésicule claire.

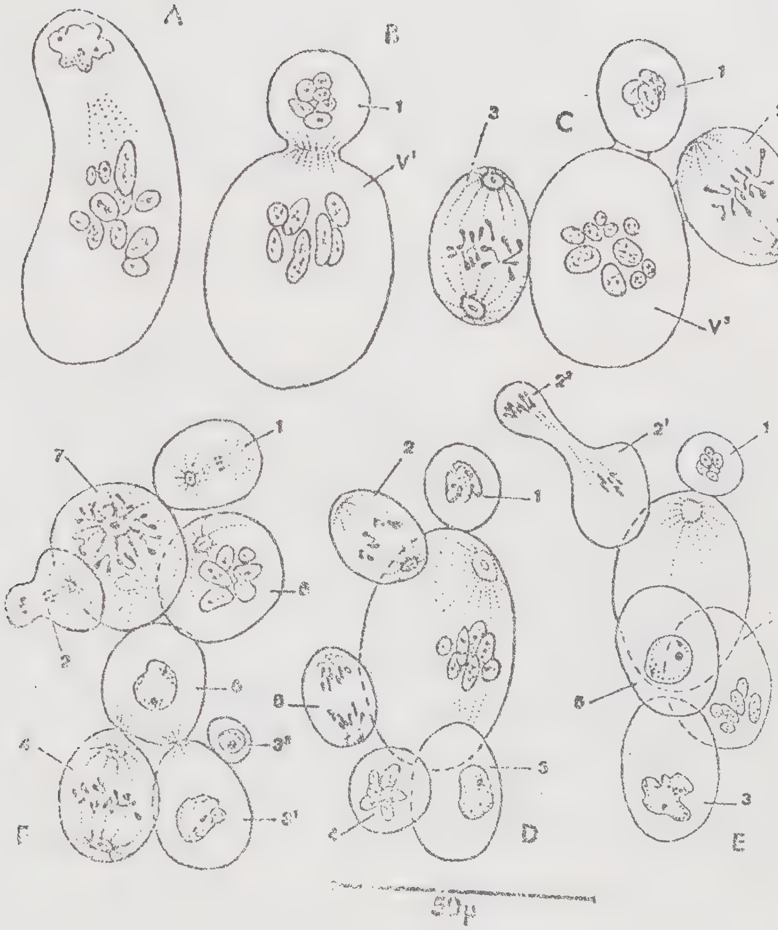


Fig. 12.- Segmentation d'*Acrorhynchides robustus*.
A et B : formation du stade 2. - C : stade 4. - D : stade 6. - E : formation du stade 7. - F : stade 8.
Pour la numérotation des blastomères voir texte p. 92.

5 - Formation du stade 6.

Sans que son noyau revienne à l'état quiescent, le macromère V^4 se divise une fois de plus et une nouvelle cellule s'isole à son pôle postérieur. Ce blastomère 5 est subsphérique et mesure environ 20 μ de diamètre.

Ainsi se trouve réalisé un stade à six cellules comprenant : le macromère V^5 ovoïde de 50 μ de long sur 30 μ de large, étiré en longueur perpendiculairement à l'axe polaire de l'oeuf , le micromère 1 et le blastomère 2 portés à l'un des pôles de ce macromère , et enfin les cellules 3, 4 et 5 de volume inégal situées à son autre extrémité.

C. - PHASE DE MULTIPLICATION CELLULAIRE.

1 - Divisions conduisant au stade 9.

Par la suite, les crises mitotiques touchent simultanément plusieurs cellules. Les blastomères 2 et 3 préparent dès le stade 4 un clivage, oblique pour le premier et transversal pour le second, mais leur division et la séparation des cellules filles durent si longtemps que le macromère V^5 a le temps de se segmenter encore deux fois auparavant.

Aussitôt après la formation du stade 6, le macromère V^5 amorce donc un nouveau cloisonnement à peu près transversal par rapport à son grand axe. A la suite de ces divisions apparaissent les stades à 8 ou 9 cellules, car le clivage du blastomère 3 présente souvent un retard par rapport aux autres cloisonnements.

2 - Formation de la morula (Fig. 13).

Au-delà du stade à 8 ou 9 blastomères, il n'est pratiquement plus possible de suivre les filiations cellulaires avec précision, en raison du nombre important de cellules concernées par les différentes crises mitotiques qui se succèdent très rapidement. De plus, les clivages des divers blastomères intéressés par une même crise mitotique ne se réalisent pas simultanément et les cellules filles issues du cloisonnement d'une même cellule n'ont pas des tailles et des positions comparables dans tous les embryons ; en effet au cours de la division ces blastomères se déforment souvent d'une façon considérable pour s'insinuer entre les cellules vitellines qui les enveloppent.

Pendant quelques divisions, l'embryon garde une forme irrégulière allongée et les cellules qui en constituent l'axe restent un certain temps nettement plus volumineuses que les autres. Mais dès qu'il compte une trentaine de cellules, l'embryon forme une morula ovoïde trois à quatre fois plus longue que large dont les blastomères au début inégaux acquièrent progressivement la même taille par le jeu des divisions successives. A ce moment, le cytoplasme des blastomères intensément éosinophile jusque-là se colore de plus en plus par les laques d'hématoxyline.

II. - FORMATION DE L'EMBRYON.

A. - EVOLUTION DE LA MASSE VITELLINE.

Lors de la formation de la capsule les cellules vitellines d'Acrorhynchides robustus présentent une taille considérable atteignant presque celle de l'ovule. Elles possèdent alors une forme assez régulièrement polygonale et leur cytoplasme, après avoir perdu les substances constitutives de la coque ovigère apparaît de couleur claire et partiellement occupé par des globules éosinophiles dont le diamètre varie entre 2 et 7 μ. Au cours de la segmentation, les réserves vitellines éosinophiles continuent à se regrouper et à fusionner en constituant des enclaves de formes variées et de plus en plus volumineuses dans le cytoplasme des vitellocytes. La taille de ces derniers diminue pendant que s'accomplit cette évolution, si bien que le contenu de la capsule qui adhère à la coque lors de sa constitution, s'en décolle peu à peu au cours des premières étapes du développement embryonnaire.

Dès la fin de la segmentation, quelques blastomères s'écartent de la morula qui constitue alors l'embryon et parviennent jusqu'à la périphérie de la ponte après avoir traversé la masse des cellules vitellines en s'insinuant entre celles-ci. Parvenus au terme de leur migration, ces blastomères s'aplatissent à la surface de la masse vitelline et leur cytoplasme lamellaire très étroit n'a plus que 1 à 2 μ d'épaisseur tandis que leur noyau qui s'aplatit également, prend une forme lenticulaire. L'étalement progressif du cytoplasme de ces blastomères tend à mettre en place une fine membrane embryonnaire unistratifiée d'apparence épithéliale, recou-

Fig. 13.- Embryogénèse et organogenèse d'Acrorhynchides robustus.
A : formation de la membrane embryonnaire. - B : migration des blastomères et formation de l'ébauche pharyngienne. - C, D et E : [illegible] de la formation du pharynx.

e : membrane embryonnaire ; i : épithélium interne du pharynx ; m : myoblaste ; p : ébauche pharyngienne ; po : poche oesophagienne ; pt : poche de la trompe.

Echelle a valable pour les figs. A et B, b pour les figs. C à E

vrant tout le contenu de la capsule. Dans la région équatoriale de celle-ci, les membranes des deux embryons s'affrontent sans se souder et s'enfoncent alors côte à côte dans le magna des cellules vitellines qui se trouve ainsi découpé en deux massifs, contenant chacun un embryon.

B. - MISE EN PLACE DES EBAUCHES EMBRYONNAIRES.

C'est aussi à un stade extrêmement précoce que se réalise la migration des autres blastomères. Dès que l'embryon possède une cinquantaine de cellules, celles-ci s'éloignent les unes des autres en se déplaçant activement parmi les cellules vitellines. A ce stade on distingue encore, bien que cela ne soit pas toujours facile, deux catégories cellulaires : des cellules à gros noyau qui forment alors l'essentiel de l'embryon et dont le cytoplasme se colore par l'hématoxyline ; d'autres plus petites, moins nombreuses et à cytoplasme éosinophile. Les premières se multiplient et tendent à s'écarter les unes des autres en s'insinuant entre les cellules vitellines qui les entourent. Ainsi l'embryon qui occupait jusqu'à ce moment la partie centrale de chaque massif vitellin, se délamine en formant une cavité interne dans laquelle les cellules vitellines sont progressivement rejetées au fur et à mesure de l'avance des blastomères.

Le passage du vitellus à l'intérieur de la cavité embryonnaire n'est pas uniquement un phénomène passif, et certaines cellules embryonnaires qui phagocytent les cellules vitellines environnantes favorisent de la sorte une progression rapide des autres blastomères. Les cellules phagocytaires (ou vitellophages) absorbent donc le vitellus dans une ou deux grosses vacuoles qui distendent leurs parois et repoussent leur noyau et leur cytoplasme périnucléaire dans une protubérance périphérique. Lorsque les vitellophages tombent dans la cavité générale de l'embryon, leur noyau entre en pycnose et dégénère peu à peu. Au contraire de ce qui se passe chez les autres Turbellariés, le nombre des cellules phagocytaires est relativement élevé si bien qu'à la fin de la migration des blastomère, la cavité de l'embryon d'*Acrorhynchides* ne renferme pas moins de 30 à 50 balles vitellines ovoïdes ou globuleuses résultant chacune de l'activité d'un vitellophage. Certaines observations suggèrent que les cellules à cytoplasme éosinophile sont les initiales des cellules phagocytaires : en effet, au contact du vitellus, le volume de leur cytoplasme augmente et

elles prennent souvent une forme polygonale ou parfois même étoilée.

Tant que l'embryon ne dépasse pas la moitié de sa taille définitive qui correspond à celle du vitellus enfermé à l'intérieur de la membrane embryonnaire, il ne compte qu'une ou deux assises cellulaires régulièrement réparties sur toute sa surface. Au cours des phases ultérieures du développement, les cellules embryonnaires localisées au voisinage des pôles de la capsule restent contigües et forment ainsi une assise pluristratifiée pavimenteuse qui s'épaissit lentement par l'arrivée de nouveaux blastomères.

Il se forme ainsi deux blastèmes distincts mais alignés côte à côte, comportant quatre à cinq assises cellulaires à partir desquelles se constitue l'ébauche de la région céphalique du futur animal. Simultanément, une vingtaine de blastomères se rassemblent ventralement par rapport à l'ébauche précédente pour constituer le petit massif globuleux du blastème pharyngien. Dans la région ventrale du futur animal, la paroi embryonnaire se réduit à une couche à peu près régulièrement monocellulaire tandis qu'à l'extrémité dorsale et postérieure de l'embryon, les cellules embryonnaires se dispersent et se trouvent écartées les unes des autres ; elles restent cependant en contact par leur cytoplasme pariétal qui s'étire considérablement pour former une mince membrane protoplasmique continue tout le long du vitellus externe de l'embryon.

III. - ORGANOGENESE (Fig. 13 et 14).

Chez *Acrorhynchides robustus* l'organogenèse débute d'une façon extrêmement précoce, bien avant même que s'achève la migration des blastomères au sein du vitellus externe de l'embryon. Il faut également signaler que contrairement à toutes les espèces étudiées jusqu'à présent où les ganglions cérébroïdes se différencient tout d'abord, chez *Acrorhynchides* c'est l'ébauche pharyngienne qui se développe en premier lieu.

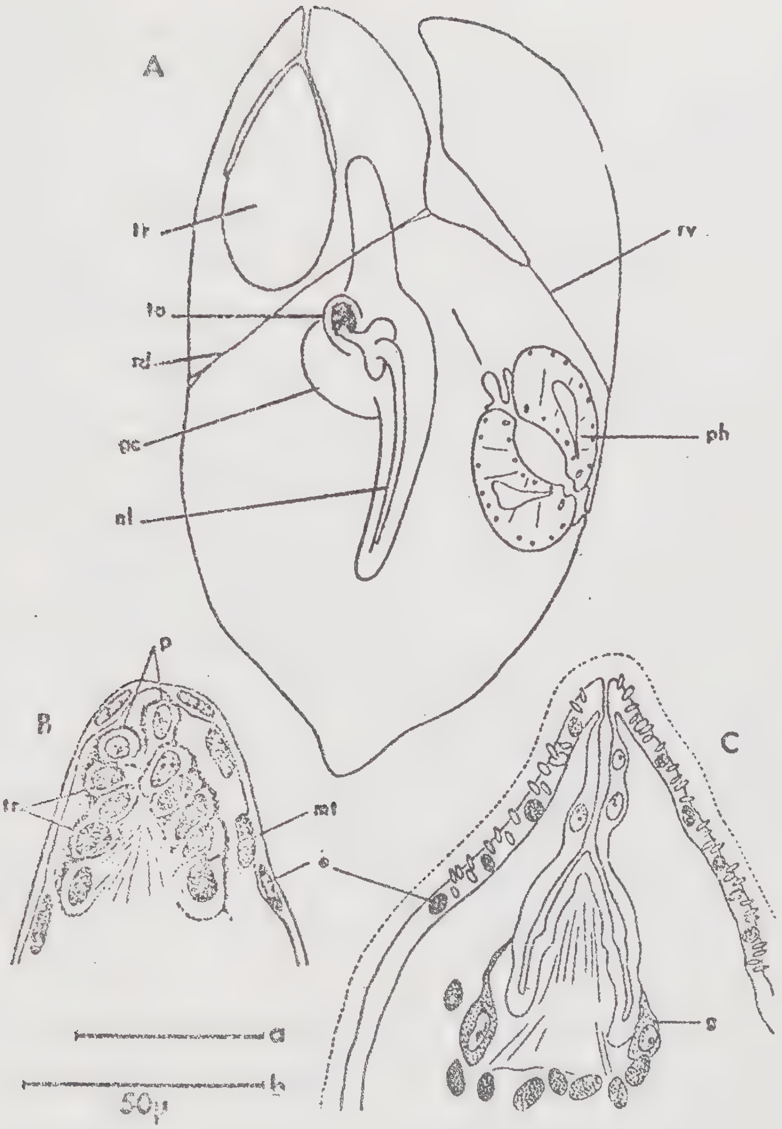


Fig. 14.- Organogenèse d'Acrorhynchides robustus.
A : Anatomie de l'animal à l'éclosion. - B et C : formation de la trompe. e : noyau de l'épithélium tégumentaire ; g : cellule glandulaire ; gc : ganglions cérébroïdes ; nl : nerf latéral ; mt : myoblaste tégumentaire ; p : initiales de l'épithélium de la poche de la trompe ; ph : pharynx ; rd : muscle rétracteur tégumentaire dorsal ; rv : muscle rétracteur tégumentaire ventral ; to : tache oculaire ; tr : trompe.

A. - TEGUMENT.

1 - Epithélium.

L'épithélium tégumentaire dérive de la membrane embryonnaire qui se met en place tout à fait au début de la formation de l'embryon. Cette membrane épithéliale unistratifiée et très mince puisqu'elle ne dépasse pas 2 µ d'épaisseur, est parsemée de noyaux ovoïdes saillants à l'intérieur de l'embryon qu'elle délimite. Sa structure n'évolue pas jusqu'à la différenciation des blastèmes cervicaux et pharyngien. En effet, à ce moment là, certaines cellules embryonnaires provenant de la périphérie de ces ébauches s'étalent à la face interne de la membrane embryonnaire qu'elles doublent presque complètement dans la région antérieure de l'embryon et partiellement sur sa face ventrale. Ces blastomères s'aplatissent parallèlement à la surface de l'embryon où ils différencient peu à peu les myofibrilles constituant les muscles tégumentaires. Il est intéressant de constater que l'épaississement de la membrane embryonnaire et sa transformation en épithélium externe débutent à partir des zones où se rassemblent les initiales de la musculature tégumentaire, c'est-à-dire de la zone antérieure et de la zone péripharyngienne de l'embryon. La différenciation de l'épithélium se poursuit ensuite de proche en proche à partir des deux centres précédents, enveloppant d'abord les flancs depuis l'avant, puis l'extrémité postérieure à partir de la face ventrale pour se terminer enfin dans la région dorsale.

L'épithélium tégumentaire s'épaissit progressivement au cours de sa différenciation et lorsque s'achève la vie embryonnaire, il atteint une épaisseur de l'ordre de 5 à 6 µ. La ciliature épidermique se constitue tout d'abord dans la région antérieure, puis s'étend bientôt sur tout le corps de l'embryon. Dans le cytoplasme des cellules épithéliales apparaissent les rhabdites et enfin les vacuoles. Parvenu à ce stade quelques jours avant l'éclosion, l'épithélium épidermique n'évolue plus durant la vie postembryonnaire et adulte.

2 - Musculature.

La musculature tégumentaire qui comporte à la fois des fibres longitudinales et circulaires se met en place d'abord dans la partie antérieure

et dans la région pharyngienne de l'embryon. Son extension vers l'arrière et le dos se fait seulement à la fin de l'embryogenèse, à la suite de la migration d'un certain nombre de blastomères provenant des côtés et de la partie postérieure de l'ébauche embryonnaire antérieure. D'une façon générale, les fibres musculaires longitudinales apparaissent plus précocement que les circulaires ; d'autre part, les sphincters de la bouche et de la poche de la trompe se développent avant que se percent les orifices correspondants.

Au cours de la vie embryonnaire, se constituent aussi les deux paires de muscles rétracteurs tégumentaires. La première paire ventrale apparaît tout d'abord sous la forme de deux alignements de blastomères indifférenciés et localisés entre l'extrémité antérieure de l'embryon et sa région pharyngienne. La seconde paire dorsale se met en place un peu plus tardivement que la paire ventrale ; les blastomères indifférenciés qui la constituent se disposent tout le long d'une ligne joignant l'extrémité antérieure de l'embryon à sa paroi latérodorsale, un peu en arrière des ganglions cérébroïdes. Les fibrilles musculaires se différencient rapidement, si bien que les rétracteurs tégumentaires constituent déjà des muscles très importants à l'éclosion. Durant toute la période embryonnaire, les rétracteurs tégumentaires ventraux ont un développement anticipé par rapport aux rétracteurs dorsaux.

B. - GANGLIONS CEREBROIDES.

L'ébauche des ganglions cérébroïdes ne se forme pas avant la fin de la migration des blastomères et le passage du vitellus à l'intérieur de la cavité interne de l'embryon. A ce moment là on distingue les deux blastèmes antérieurs de l'embryon, qui comptent chacun quatre ou cinq assises superposées de blastomères indifférenciés. Ils ont une forme triangulaire et s'allongent l'un à côté de l'autre, à peine séparés par un étroit espace sagittal. Au bout de quelques temps d'ailleurs, ces deux blastèmes augmentent de volume et fusionnent tout d'abord dans leur partie antérieure puis vers l'arrière, en une ébauche unique. A l'exception de son extrémité antérieure qui formera la trompe, l'essentiel de l'ébauche se différencie en donnant les ganglions cérébroïdes et les troncs nerveux qui en dépendent.

L'apparition des premières fibres nerveuses a lieu dans la zone postérieure de chacun des blastèmes, avant leur soudure. Les fibres nerveuses s'allongent transversalement par rapport à l'axe longitudinal de l'embryon, d'abord dans la région sagittale où elles se fondent en une masse unique lors de la fusion des deux blastèmes antérieures, puis latéralement de chaque côté de l'animal. Parvenu à proximité des flancs de l'embryon, le faisceau des fibres nerveuses s'incurve postérieurement pour constituer un tronc nerveux latéral de chaque côté du corps. Mais si les fibres nerveuses des ganglions cérébroïdes se mettent en place et se développent d'une façon relativement rapide, on doit constater que leur extension vers l'arrière est extrêmement lente puisqu'au moment de l'éclosion elles n'atteignent pas encore le milieu du corps. Pourtant le faisceau de fibres nerveuses qui constitue les ganglions cérébroïdes et les troncs latéraux est bien plus étroit que celui de la plupart des autres Calyptorhynques ; il est vrai que les noyaux des cellules nerveuses sont proportionnellement plus volumineux et de ce fait peu nombreux, ce qui explique peut-être l'étroitesse des troncs nerveux et la lenteur de leur mise en place.

Au moment où s'amorce la formation des deux troncs nerveux latéraux, des fibres se détachent des ganglions cérébroïdes et forment deux faisceaux dorsaux courts dirigés vers l'avant. Simultanément, dans le cytoplasme d'un blastomère situé en avant de chacun de ces nerfs, apparaissent des granulations sphériques noirâtres qui d'abord peu nombreuses se multiplient rapidement pour constituer une tache oculaire. Au terme de leur multiplication, les granules pigmentaires de chaque tache oculaire sont groupés en une calotte dont la concavité tournée vers l'arrière de l'embryon entre en contact étroit avec l'extrémité de chaque nerf antérieur.

Dans les derniers jours de la vie embryonnaire, on voit apparaître encore au niveau des ganglions cérébroïdes, l'amorce de deux autres troncs antérieurs et ventraux.

C. - TROMPE.

Cet organe si caractéristique des Turbellariés Calyptorhynques se réalise à partir d'un petit groupe de blastomères qui s'isole en avant de l'ébauche embryonnaire antérieure. La trompe n'apparaît qu'après la fusion des deux blastèmes céphaliques. Sa formation est donc postérieure à celle des ganglions cérébroïdes.

1 - Formation de l'ébauche de la trompe.

Dans un premier temps, les cellules embryonnaires constituant l'ébauche de la trompe sont groupées en un massif ovoïde nettement isolé à l'avant du blastème cervical et dont le pôle le plus étroit est situé à la partie antérieure de l'embryon. Dans la partie profonde de l'ébauche apparaissent très rapidement les premières fibrilles musculaires longitudinales qui repoussent latéralement et postérieurement les blastomères environnants. A l'avant, les cellules embryonnaires qui coiffent la partie antérieure de l'organe en formation commencent à s'aplatir. C'est le début de leur différenciation en un épithélium qui formera ultérieurement la paroi de la poche de la trompe.

2 - Formation de la poche de la trompe.

Au moment de l'apparition de l'ébauche de la trompe, les cellules initiales de la poche constituent alors un massif plein comportant deux assises de blastomères qui enveloppent toute la moitié antérieure de la trompe et se prolongent en avant, jusqu'au tégument, par une sorte de trabécule cylindrique. C'est dans cette zone située en avant de la trompe proprement dite, que se creuse tout d'abord un canal longitudinal interne autour duquel les initiales épithéliales s'ordonnent en une assise unicellulaire. Ce canal qui représente l'ébauche de la poche de la trompe s'allonge vers l'avant jusqu'au tégument mais sans s'ouvrir à l'extérieur, et vers l'arrière jusqu'à la pointe de la trompe. Un peu plus tard, la double assise de cellules épithéliales qui enveloppe l'extrémité antérieure de la trompe se délamine de l'avant vers l'arrière, isolant celle-ci des tissus environnants. Tous les noyaux sont entraînés dans la couche externe qui délimite la paroi de la poche, si bien que l'épithélium de revêtement de l'extrémité de la trompe paraît anucléé.

Au début, le revêtement de la poche de la trompe apparaît sous la forme d'une membrane excessivement fine, à gros noyaux saillants. Par la suite, cette membrane s'épaissit progressivement sur toute sa surface, mais un peu plus au niveau de la paroi externe limitant la poche, et finit par envelopper complètement les noyaux épithéliaux qui entre temps se sont aplatis pour prendre une forme lenticulaire. C'est à ce stade tardif que l'épithélium tégumentaire qui possède sa structure définitive, se perce et fait communiquer la poche de la trompe avec l'extérieur.

3 - Formation de la trompe proprement dite.

Pendant que se délaminent les parois de la poche,la plupart des blastomères de l'ébauche sous jacente se différencient en myoblastes.

Par la suite, le développement des myofibrilles isole complètement 20 à 30 blastomères du reste de l'ébauche dont les cellules se disposent concentriquement en calotte à son pôle postérieure. Les fibrilles musculaires qui se multiplient sont toutes longitudinales, regroupées en faisceau convergent vers l'avant de l'embryon et s'écartant les unes des autres vers l'arrière, si bien que la trompe prend très tôt la forme d'un cône dont le sommet est antérieur.

Enfin, quelques jours avant l'éclosion, apparaissent les fibres musculaires circulaires qui se développent d'une part à l'extrémité antérieure de la trompe et d'autre part à son pôle postérieur lequel est transformé en bulbe basal. En même temps, certains blastomères de l'ébauche se différencient en cellules glandulaires groupées à l'arrière de l'organe, tandis que d'autres forment les fibrilles musculaires des trois paires de muscles rétracteurs insérés latéralement et dorsalement sur le bulbe basal.

Les noyaux des blastomères ayant participé à l'élaboration de la trompe, forment une sorte de manchon localisé tout autour de la région basale de cet organe.

D. - PHARYNX.

1 - Formation de l'ébauche pharyngienne.

La différenciation du blastème pharyngien se réalise chez Acrorhynchides d'une façon très précoce et il se reconnaît déjà chez les jeunes embryons dont la longueur atteint à peine la moitié de celle du territoire vitellin délimité par les cellules de la membrane épithéliale embryonnaire. Au lieu de s'aplatir à la surface du vitellus en une sorte de membrane uni- ou pluristratifiée comme les autres blastomères, les cellules de l'ébauche pharyngienne s'allongent et prennent une forme cylindrique tout en s'orientant parallèlement les unes aux autres. Ainsi se trouve réalisé une ébauche comprenant une quinzaine à une vingtaine de cellules allongées et disposées à peu près régulièrement dans un même plan.

Des multiplications cellulaires répétées surtout le long des bords du blastème pharyngien provoquent son accroissement aussi bien sur les côtés que dans sa partie ventrale qui se trouve ainsi repoussée vers la membrane embryonnaire. Cette progression est facilitée par l'avancée très rapide des blastomères de la région antérieure de l'embryon qui arrivent aussi au contact de la membrane embryonnaire.

Lorsque le blastème pharyngien est parvenu à son emplacement définitif sous la membrane embryonnaire, il est constitué par 1) une assise de quelques cellules à noyau globuleux tapissant la face interne de la membrane embryonnaire, 2) un massif central comprenant au maximum une dizaine de cellules étirées perpendiculairement à la surface de l'embryon et enfin 3) trois ou quatre assises de blastomères disposés concentriquement autour des cellules précédentes.

Assez rapidement,les blastomères situés à la périphérie de l'ébauche constituent une membrane d'apparence épithéliale qui enveloppe toute l'ébauche à l'exception de sa face ventrale.

Les quelques blastomères qui n'ont pas été enveloppés par la tunique pharyngienne donnent naissance à la musculature motrice ventrale du pharynx.

2 - Formation du canal pharyngien.

Très rapidement, les membranes cellulaires des blastomères du massif interne se disjoingnent dans leur région médiane où apparaît une cavité localisée en plein milieu du blastème pharyngien. Par la suite, cette cavité s'allonge entre les cellules périphériques en un canal étroit qui préfigure le canal pharyngien et son épithélium.

Ensuite, le creusement du canal progresse aussi bien du côté interne jusqu'à la limite du blastème pharyngien que du côté externe où il atteint l'assise des myoblastes indifférenciés situés immédiatement sous la membrane embryonnaire. Les cellules qui bordent le canal pharyngien s'écartent plus largement au contact de la paroi de l'embryon formant une petite cavité qui préfigure la poche de la trompe et prolonge ventralement le canal pharyngien. Par la suite, elle se développe latéralement et vers le dos, le long de la paroi externe du pharynx dont l'extrémité ventrale est libre à l'intérieur de cette poche.

Dans les derniers jours de la vie embryonnaire, pendant la formation de l'épithélium et de la musculature tégumentaire, la bouche se perce. Elle

apparaît comme un étroit canalicule faisant communiquer la poche pharyngienne avec l'extérieur et s'entoure rapidement d'un ensemble de fibres musculaires circulaires dérivant de la musculature tégumentaire. L'épithélium de revêtement de la poche et du canal pharyngien s'amincit et ses noyaux prennent une forme elliptique.

3 - Différenciation de la paroi pharyngienne.

Au moment où se différencie l'épithélium interne du pharynx, les blastomères sous jacents se transforment en myoblastes élaborant la musculature interne du pharynx. D'autre part, les cellules disséminées à la périphérie du blastème s'aplatissent et se soudent les unes aux autres en formant une membrane épithéliale qui isole l'ébauche de la cavité interne de l'embryon. Ultérieurement, des fibres musculaires font leur apparition tout le long de cette membrane qui se transforme donc en une véritable tunique.

Jusqu'à ce stade, les cellules de l'ébauche du pharynx forment un massif globuleux de blastomères en voie de différenciation. Mais lorsque la poche pharyngienne se creuse et que les blastomères du pôle ventral du pharynx se séparent de la paroi ventrale de l'embryon, le cytoplasme de ceux-ci s'accroît sensiblement par l'apparition de vacuoles et forme même une sorte de bourrelet annulaire saillant autour de l'orifice pharyngien. Dans ce bourrelet apparaîtra plus tard un sphincter musculaire.

Ultérieurement, des cavités se développent dans le cytoplasme des myoblastes pharyngiens et repoussent les noyaux à la périphérie de l'ébauche, sous la tunique musculaire externe. Seuls restent à leur place initiale, les myoblastes qui se sont différenciés au contact de l'épithélium du canal pharyngien et quelques rares blastomères qui persistent dans des trabécules cytoplasmiques. Ces blastomères formeront, un peu avant l'éclosion, les glandes pharyngiennes et la musculature radiaire. En même temps, dans la partie ventrale de l'ébauche, les bords de la poche pharyngienne s'insinuent entre les blastomères et la tunique qui les emballe, provoquant ainsi l'agrandissement de la poche oesophagienne dont la paroi est constituée par les cellules épithéliales pavimenteuses à noyau ovoïde.

4 - Formation de la cavité oesophagienne.

A la partie dorsale de l'ébauche, la tunique se sépare aussi de la paroi pharyngienne en formant la cavité oesophagienne très réduite mais

qui s'ouvre très vite sur le canal pharyngien. A la fin de la période embryonnaire, la délamination de la tunique se poursuit provoquant l'élargissement de la cavité oesophagienne. Autour de l'oesophage, les cellules initiales des glandes oesophagiennes augmentent de volume et leur cytoplasme se charge de granulations qui se colorent à l'hématoxyline. L'intestin qui se développe à partir des cellules de la paroi oesophagienne ne se différencie pas avant l'éclosion.

E. - PARENCHYME.

A la fin de la période embryonnaire, des cellules parenchymateuses de grande taille apparaissent dans la partie postérieure et dorsale de l'animal.

F. - ORGANES GENITAUX.

A l'éclosion, il n'existe chez cette espèce, ni blastème, ni organe génital différenciés.

IV. - ANATOMIE DE L'ANIMAL A L'ECLOSION.

A l'éclosion, l'épithélium a acquis sa structure définitive, la musculature tégumentaire y compris les deux paires de muscles rétracteurs antérieurs, est à peu près complète, sauf dans la région dorsale où elle est en train de se mettre en place.

Les ganglions cérébroïdes ont alors un développement important, les principaux troncs nerveux sont en place de même que les taches oculaires. A la différence de la plupart des autres organes qui continuent leur croissance durant la période postembryonnaire et adulte, le système nerveux ne se développe pratiquement plus de sorte que chez l'adulte son volume diminue par rapport à celui des autres organes.

La structure de la trompe est également identique à celle de l'adulte dont elle ne diffère que par un moindre développement des fibres musculaires circulaires. Les cellules glandulaires associées à la trompe ainsi que les trois paires de muscles rétracteurs sont bien différenciés et fontionnels dès l'éclosion.

Le tube digestif possède un pharynx bien formé mais dont la musculature circulaire est encore incomplète et dont les glandes intrapharyngiennes commencent à peine à se différencier. La poche pharyngienne courte et étroite s'ouvre à l'extérieur par une bouche munie d'un sphincter efficace. A l'autre extrémité du canal pharyngien, la poche oesophagienne est encore très courte mais déjà bordée de cellules glandulaires oesophagiennes. L'extension de la poche oesophagienne qui se transforme en intestin, ne se réalise donc que durant la phase postembryonnaire.

Enfin, on observe dorsalement au-dessus de chacun des deux troncs latéraux, un regroupement lâche de nombreux blastomères en voie de différenciation, contenant un certain nombre de futurs myoblastes et de cellules parenchymateuses mais aussi probablement, les initiales des glandes vitellines et des testicules. Au moment de l'éclosion, il n'y a pas encore la moindre trace de l'ébauche destinée à produire l'appareil copulateur et ses annexes.

En raison des difficultés d'élevage, il n'a malheureusement pas été possible de suivre le développement postembryonnaire d'*Acrorhynchides robustus*.

CHAPITRE VII

DESCRIPTION DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE BALTOPLANA MAGNA

La capsule de Baltoplana magna a une forme régulièrement piriforme, souvent presque sphérique et mesure en moyenne 250 à 300 µ de diamètre. Elle est fixée sur un grain de sable par un pédoncule courbe terminé par une plaque basale. A l'extrémité opposée au point d'insertion du pédoncule, il existe un clapet à deux valves ménageant un orifice arrondi ou elliptique. Contrairement à celle des autres Calyptorhynques, la coque ovigère est opaque et ne permet pas l'observation du contenu de la capsule.

La ponte se compose de deux ovules et de 250 à 300 cellules vitellines.

I. - SEGMENTATION.

A. - OEUF INDIVIS.

Au terme de sa croissance, l'ovocyte a une forme elliptique et ses dimensions sont de 70 à 80 µ sur 40 à 50. Le noyau ovalaire mesure environ 20 µ sur 10.

Après avoir pénétré dans le cytoplasme de l'ovocyte, le noyau du spermatozoïde se transforme immédiatement en un pronucleus mâle, un peu plus volumineux que le noyau de l'ovule. Le pronucleus mâle demeure dans le cytoplasme pariétal de l'ovule tandis qu'apparaissent les deux asters de la première division de maturation, de part et d'autre du noyau femelle qui est resté au centre de la cellule. Ce noyau qui n'a pas encore évolué contient des chromosomes au stade zygotène et un nucléole de 3 à 4 µ de diamètre. L'axe passant par les deux asters est légèrement oblique par rapport au grand axe de l'ovule.

Je n'ai pas eu l'occasion d'observer les deux divisions de maturation qui se déroulent ensuite, mais leur existence est attestée par la présence

de globules polaires bien visibles sur certaines préparations des premières étapes de la segmentation.

En définitive, l'ovule prêt à se segmenter est allongé et son grand axe correspond à l'axe polaire. Sa taille est assez considérable : 80 µ selon le grand axe et 50 µ dans sa plus grande largeur.

B. - PREMIERES ETAPES DE LA SEGMENTATION (Fig. 15).

1 - Formation du stade 2.

La première division de segmentation débute par l'apparition d'un fuseau achromatique dont la position est un peu oblique par rapport à l'axe d'allongement de l'ovule, encore confondu avec l'axe polaire. En raison de son obliquité, le fuseau n'occupe que l'un des pôle de l'oeuf et les deux blastomères qui se forment sont de taille très inégale : le macromère V^1 qui reste ovoïde mesure 60 µ sur 40, tandis que le micromère 1 presque sphérique ne dépasse guère 20 µ de diamètre. La séparation du micromère se produit au voisinage du point d'expulsion des globules polaires.

2 - Formation du stade 3.

Après la séparation des deux premiers blastomères, leurs noyaux demeurent intercinétiques pendant un certain temps avant que s'amorce la seconde division de segmentation. Celle-ci intéresse le macromère V^1 et le fuseau de division apparaît alors presque perpendiculaire à l'axe d'allongement du macromère ou tout au moins très fortement incliné par rapport à lui. Le blastomère 2 s'isole du macromère V^2 par une cloison parallèle au plan de symétrie de l'embryon. Le blastomère 2 se sépare soit du même côté que le micromère, soit du côté opposé ; ses dimensions (35-40 µ x 25-30 µ) sont légèrement inférieures à celles du macromère (50 µ x 40 µ). Après la formation de la cloison entre les deux cellules, les noyaux quiescents qui se reconstituent ont un volume presqu'équivalent à celui du noyau de l'ovocyte.

3 - Formation du stade 4.

Le noyau du macromère qui est resté jusque-là au pôle animal de la cellule, se déplace vers le pôle végétatif avant qu'apparaisse le fuseau chromatique dont l'orientation est encore légèrement oblique par rapport

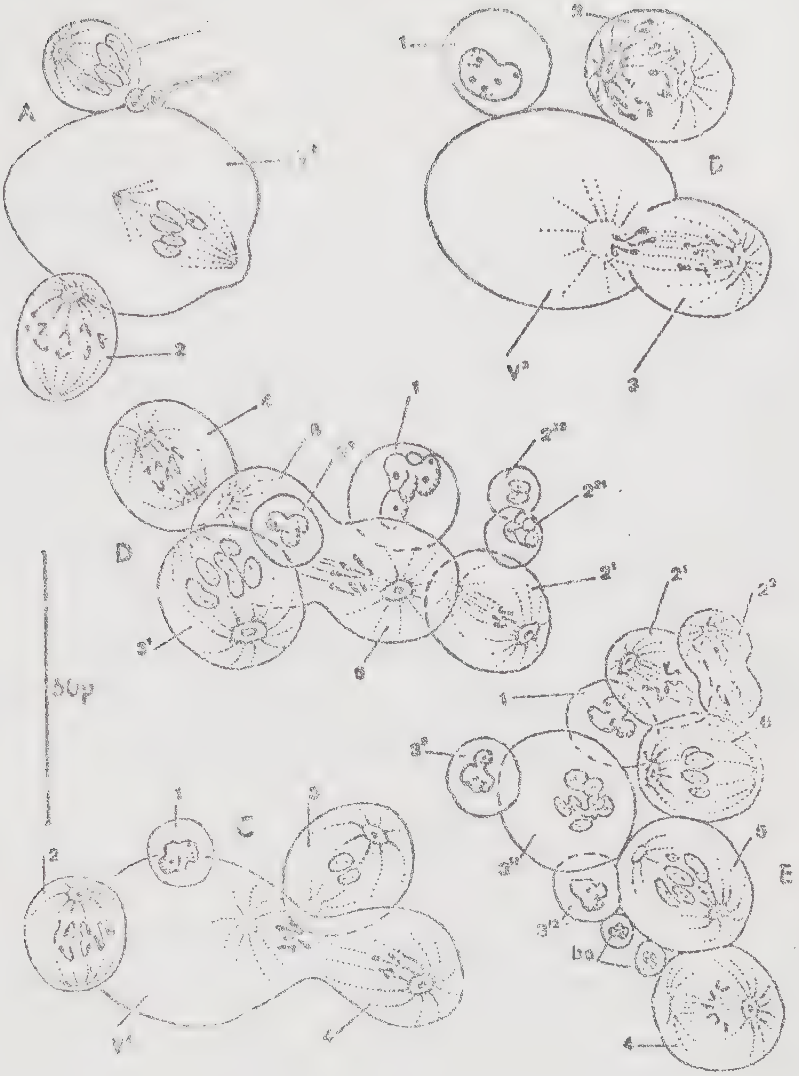


Fig. 15. [illegible] magna. [illegible] formation [illegible] stade [illegible]. - C : stade 5. - D : stade 8. - E : jeune [illegible].
[illegible] la numérotation des blastomères, voir texte p. 92 ; ba : blastomères abortifs ; [illegible] : globules polaires.
[illegible] a valable pour la fig. A ; b po[illegible] les figs. B et C.

au grand axe de ce blastomère. Le macromère V^2 se clive alors dans un plan perpendiculaire à l'axe polaire défini par le point d'expulsion des globules polaires et la cellule 3 s'individualise à l'opposé du blastomère 2.

4 - Formation du stade 5.

Aussitôt après l'isolement du blastomère 3, le macromère V^3 sans même reconstituer un noyau quiescent prépare une nouvelle division qui se réalise à peu près au même endroit que la segmentation précédente mais à l'opposé du point d'insertion du micromère. Le blastomère 4 qui s'individualise a une taille sensiblement égale à celle des blastomères 2 et 3.

L'embryon à cinq cellules qui vient de se former comprend donc un macromère V^4 de forme ovoïde atteignant 50 µ de long sur 40 de large, le micromère 1 et le blastomère 2 situés non loin l'un de l'autre près du pôle animal du précédent macromère, les blastomères 3 et 4 qui occupent le pôle opposé. Les blastomères 2, 3 et 4 sont de taille égale, intermédiaire entre celle du micromère et du macromère.

B. - PHASE DE MULTIPLICATION CELLULAIRE.

1 - Divisions conduisant au stade 8.

A partir du stade 5, les crises mitotiques intéressent un nombre plus élevé de blastomères.

Un peu après la formation du stade 4, apparaît dans le blastomère 2 un fuseau de division orienté dans un plan perpendiculaire à l'axe polaire de l'animal, mais la caryocinèse et la cytodiérèse se déroulent si lentement que l'isolement du blastomère 2^2 à la périphérie de l'embryon laisse au macromère le temps de se diviser deux fois.

Aussitôt après le stade 5 en effet, le macromère V^4 se clive encore une fois mais l'allongement du fuseau achromatique se produit maintenant selon le grand axe de ce blastomère qui se fragmente ainsi en deux cellules 5 et 6, de taille équivalente.

Enfin, le blastomère 3 se clive transversalement par rapport à son grand axe d'allongement et donne naissance, au bord de l'embryon, à un nouveau blastomère 3^2 qui mesure environ 15 µ de diamètre.

Le stade 8 est donc constitué par les blastomères 5 et 6 qui forment la partie centrale de l'embryon, les blastomères 1, 2^{1} et 2^{2} qui occupent la région animale, les blastomères 3^{1}, 3^{2} et 4 localisés dans la région végétative.

2 - Divisions conduisant au stade 10.

Une nouvelle vague mitotique survient alors qui provoque la division de deux blastomères : le 2^{2} qui en produit deux autres de taille très réduite, 2^{21} et 2^{22} et le 3^{1} qui par un cloisonnement transversal engendre la nouvelle cellule 3^{12}.

Ainsi se trouve réalisé un stade 10 blastomères comprenant :

- dans la moitié animale, un gros blastomère 5 portant les cellules 1 et 2^{1} laquelle est surmontée par 2^{21} et 2^{22} et qui sont toutes de petite taille ;

- dans la moitié végétative, le gros blastomère 6 qui porte deux cellules volumineuses 4 et 3^{11}, la dernière étant surmontée par deux blastomères plus petits 3^{12} et 3^{2} situés vers l'extérieur de l'embryon.

3 - Formation de la morula.

A ce moment là, une autre crise mitotique se prépare qui concerne les blastomères 2^{1}, 4, 5 et 6.

Avant même que ces divisions soient achevées, une autre crise provoque le clivage du micromère 1 et du macromère 3^{11}. L'analyse de la constitution des embryons devient alors très délicate et même impossible en raison de la conjugaison des deux difficultés suivantes : l'entrée en division presque simultanée de la quasi-totalité des blastomères, l'absence de synchronisme entre les différents clivages issus d'une même crise mitotique.

Après les stades 10 et 15 blastomères, très fugaces en raison de la rapidité des divisions successives, je n'ai noté que des embryons à 24 cellules. Ces embryons comprennent quatre gros blastomères dont deux sont situés à l'une des extrémités et proviennent vraisemblablement de la division des blastomères 4 et 6, tandis que les deux autres, localisés à l'autre extrémité sont sans doute issus du clivage du blastomère 5. Il faut d'ailleurs constater que des embryons ayant un même nombre de blastomères ont des constitutions différentes, certains clivages s'étant réalisés chez les uns plus précocément que chez les autres.

III. - FORMATION DE L'EMBRYON.

A. - EVOLUTION DE LA MASSE VITELLINE.

A la suite des divisions précédentes, l'embryon apparaît comme un massif plus ou moins aplati constitué par deux assises superposées de blastomères. Les clivages ultérieurs, qui se réalisent toujours dans un même plan parallèle aux deux couches cellulaires de l'embryon, déterminent chez celui-ci une croissance marginale. Ce développement est d'ailleurs plus rapide aux deux extrémités où sont localisés les gros blastomères, si bien que l'embryon s'allonge plus qu'il ne s'élargit. Ainsi, se réalise peu à peu un disque embryonnaire ovalaire formé d'une assise d'une dizaine de blastomères surmontée par une couche d'une vingtaine de cellules dont les dimensions linéraires sont la moitié ou le tiers de celles des blastomères précédents.

Les noyaux de la plupart des blastomères gardent jusqu'a ce stade un contenu clair avec quelques condensations éparses de chromatine ; certains d'entre eux, contiennent un petit nucléole très colorable entouré d'une large vésicule hyaline.

Il est intéressant de constater que le développement du disque embryonnaire se réalise par la multiplication des blastomères les plus volumineux. Ils produisent sans cesse de nouvelles cellules qui se disposent à la périphérie de l'embryon et en assurent ainsi l'extension. En même temps, apparaissent des blastomères abortifs sphériques d'environ 3 μ de diamètre, caractérisés par leur cytoplasme hyalin et la condensation de leur chromatine nucléaire en une petite sphère à contenu très dense, homogène, très colorable au début, mais où se manifestent rapidement des phénomènes de pycnose.

B. - MISE EN PLACE DES EBAUCHES EMBRYONNAIRES.

L'accroissement marginal du disque embryonnaire plongé jusqu'alors au sein du magna des cellules vitellines, amène un certain nombre de blastomères à affleurer à la surface du contenu du cocon. Quelques unes des cellules embryonnaires s'étalent à la surface du vitellus ou de l'embryon, puis se déplacent par amoeboïsme à la surface du vitellus, sous

la paroi interne de la capsule ovigère où elles forment une enveloppe unicellulaire très mince qui tend à entourer l'embryon et le vitellus adjacent. L'étirement considérable du cytoplasme de ces cellules permet la progression de la membrane ainsi formée, autour de chaque embryon. Comme la capsule contient deux embryons, les membranes de ceux-ci entourent progressivement toute la ponte avant de s'affronter. Au moment où se rencontrent les deux membranes embryonnaires, les cellules appartenant à chacune d'elles s'insinuent à l'intérieur du vitellus en progressant parmi les espaces relativement larges qui séparent les cellules vitellines. Par la progression des deux membranes de la périphérie vers le centre, le vitellus se trouve découpé autour de chaque embryon. Les deux territoires embryonnaires qui s'individualisent ainsi sont donc entièrement enveloppés par cette membrane qui compte une douzaine ou une quinzaine de blastomères, à cytoplasme très étroit ne dépassant pas 3 μ en moyenne, et à noyaux lenticulaires très aplatis d'environ 10 μ de diamètre sur 2 μ d'épaisseur.

Pendant que se met en place la membrane embryonnaire, les blastomères continuent à se segmenter et le disque embryonnaire se trouve constitué par une centaine de petites cellules ovoïdes à noyau riche en chromatine.

Lorsque la membrane embryonnaire se referme sur elle-même en isolant l'embryon et le vitellus qui l'entoure, les blastomères commencent à se déplacer parmi les cellules vitellines. Le rythme des divisions cellulaires se ralentit à ce stade de développement; c'est surtout grâce à des mouvements amoeboïdes que se réalise la progression des blastomères qui s'insinuent dans les espaces intercellulaires du vitellus. Etant donné le nombre réduit et la taille restreinte des blastomères d'une part, la structure lâche du vitellus de cette espèce d'autre part, cette migration cellulaire est beaucoup plus rapide que chez Polycystis nägelii.

Le rassemblement des blastomères disséminés au sein et à la périphérie du vitellus constitue très vite les ébauches paires antérieures ainsi que l'ébauche pharyngienne qui apparaissent sous la forme d'amas cellulaires bien délimités, localisés à la périphérie du territoire embryonnaire et s'enfonçant plus ou moins profondément dans le vitellus sous-jacent. Les blastèmes terminés ont une forme approximativement hémisphérique ; les deux ébauches symétriques antérieures comptent alors chacune 150 à 200 cellules, tandis que l'ébauche pharyngienne n'en possède pas plus de 60 à 80.

Très tôt, les deux blastèmes symétriques antérieurs, à peine séparés l'un de l'autre dans le plan sagittal, se fusionnent en une masse unique dont le sommet antérieur s'allonge progressivement en s'écartant du vitellus sous-jacent.

IV. - ORGANOGENESE

A. TEGUMENT.

L'épithélium tégumentaire dérive de la membrane embryonnaire qui s'est constituée bien avant le regroupement des blastomères et la formation des ébauches nerveuses et pharyngienne. C'est donc, dans l'organogenèse de Baltoplana magna, l'organe dont l'ébauche est de loin la plus précoce.

Dans les blastèmes, les cellules périphériques s'alignent sous la membrane embryonnaire et se différencient pour fournir la musculature tégumentaire. Tout d'abord, les futurs myoblastes étalent leur cytoplasme le long de la membrane embryonnaire. Leur noyau ovoïde de 3 X 5 µ et muni d'un gros nucléole devient progressivement fusiforme, mesurant 8-9 µ de longsur 2 µ de large ; la chromatine devient granuleuse et le nucléole disparaît. La membrane épithéliale épaisse seulement de 1 à 2 µ présente à ce stade un cytoplasme éosinophile tandis que celui de myoblastes est encore basophile. Les noyaux des cellules épithéliales qui ressemblent par leur taille et leur forme à ceux des myoblastes déjà différenciés, s'en distinguent cependant par leur chromatine peu abondante et leur aspect très clair.

Durant le début de l'organogenèse, la structure de l'épithélium externe n'évolue pas, mais les muscles tégumentaires circulaires et longitudinaux commencent à se différencier. A la fin de la période embryonnaire, les couches musculaires sous-épidermiques ont achevé leur différenciation mais elles n'ont pas encore une importance comparable à celle qu'elles atteindront chez l'adulte. A ce même stade, les noyaux épithéliaux lenticulaires et à chromatine granuleuse s'arrondissent quelque peu et dans leur caryolymphe qui prend les colorants nucléaires d'une façon homogène, réapparaît un nucléole qui s'agrandit progressivement .

Ces phénomènes débutent dans l'épithélium de la région antérieure de l'animal où ils demeurent localisés un certain temps, puis ils s'étendent peu à peu vers l'arrière du corps. En raison de leur changement de forme, les noyaux épithéliaux ovoïdes puis pratiquement sphériques font hernie à l'extérieur. Simultanément, le cytoplasme épithélial réagit autour de chacun d'eux en formant un épaississement localisé, si bien que l'épaisseur de l'épithélium est extrêmement variable d'un point à un autre. Elle se régularise ensuite, de sorte qu'à la fin de la vie embryonnaire l'épithélium mesure près de 5 à 7 µ dans la région antérieure mais seulement 3 µ dans la partie caudale qui présente un certain retard. Peu de temps avant l'éclosion, l'épithélium se couvre de cils de 3 à 4 µ de hauteur, en commençant par la partie antérieure. En outre, apparaissent des petites vacuoles qui s'allongent dans toute l'épaisseur du cytoplasme des cellules épithéliales.

B. - GANGLIONS CEREBROIDES.

Les premières fibres nerveuses apparaissent dans les blastèmes antérieurs seulement après leur réunion en une ébauche unique, mais avant que celle-ci ne s'allonge vers l'avant. L'ébauche des ganglions cérébroïdes est constituée par deux petits groupes de fibres situés de part et d'autre du plan sagittal. La masse ganglionnaire unique se réalise par la croissance et la fusion des groupes de fibres au moment où le blastème antérieur commence à s'allonger. La plupart des cellules du blastème antérieur participent à l'élaboration de ces fibres nerveuses mais les cellules nerveuses en cours de différenciation conservent les caractères des cellules embryonnaires indifférenciées dont elles sont pratiquement indicernables. Seuls les blastomères situés immédiatement sous la membrane embryonnaire et ceux localisés tout à fait à l'extrémité antérieure du blastème ne contribuent pas à la formation des ganglions. Le volume de ces derniers augmente très vite, à cause du développement considérable des fibres nerveuses.

Les deux troncs latéraux apparaissent précocement avant que les ganglions aient atteint leur taille définitive. Jusqu'à l'éclosion, les deux troncs nerveux restent courts et ne dépassent pas le niveau du pharynx vers l'arrière. Les deux troncs nerveux antérieurs se forment plus tardivement,

à la fin de la période embryonnaire au moment où se différencient les ébauches des organes génitaux. Il n'est pas sans intérêt de constater que si la formation des ganglions cérébroïdes de *Baltoplana magna* est assurée par un nombre bien plus restreint de neurones que chez *Polycystis nägelii*, la première espèce possède cependant, à l'éclosion, une masse de fibres nerveuses ganglionnaires incomparablement plus développée que celle de *Polycystis*. Il est vrai également que chez ce dernier les principaux troncs nerveux sont en place alors qu'ils ne le sont pas à ce moment là, chez *Baltoplana*.

C. TROMPE (Fig. 16).

1 - *Formation de l'ébauche de la trompe*.

L'apparition de l'ébauche de la trompe survient au moment où débute la différenciation des premières fibres nerveuses des ganglions cérébroïdes. L'isolement de quelques blastomères à l'extrémité antérieure du blastème ganglionnaire en constitue le premier indice. Ces cellules qui se séparent du reste de l'ébauche nerveuse, prennent très rapidement l'aspect de cellules en pleine activité ; leur noyau gonfle et devient ovoïde ou subsphérique, tandis que la caryolymphe s'éclaircit et que la chromatine apparaît sous forme de mottes assez volumineuses auxquelles s'ajoute fréquemment un petit nucléole. Ces cellules initiales s'isolent très vite des cellules du blastème antérieur en s'entourant d'une membrane fibreuse. Au contact du petit massif cellulaire qui vient de se former, la membrane embryonnaire épithéliale se déprime en formant une cavité arrondie. Les bords de la cavité sous-épithéliale s'enfoncent vers l'arrière en découpant dans le cytoplasme sous-jacent, un cône dont la pointe est tournée vers l'avant de l'animal. L'invagination annulaire de l'épithélium tégumentaire vient se terminer non loin du bord antérieur de la tunique fibreuse.

L'ébauche de la trompe est plus ou moins régulièrement piriforme ou cylindroconique, de 20-25 µ de long sur 10-12 µ de large. Elle contient une dizaine de noyaux dont le volume augmente pour atteindre finalement 6-7 µ x 4 µ.

Quelques cellules à gros noyau sphérique, situées postérieurement en dehors de l'ébauche, s'isolent en même temps que celle-ci. Elles restent en contact avec l'ébauche par une expansion antérieure de leur cytoplasme

et donneront ultérieurement les cellules glandulaires et les myoblastes des muscles rétracteurs de la trompe.

2 - Formation de la poche de la trompe.

Le massif cellulaire constitué par les myoblastes qui représentent l'ébauche proprement dite de la trompe, est tapissé par quelques blastomères qui se différencient en une membrane épithéliale mince et double dont les parois se délaminent. Cette membrane sépare la partie postérieure de l'ébauche du blastème antérieur qui l'entoure. Ensuite la séparation progresse rapidement vers les parties moyennes et antérieures, tandis que les deux assises épithéliales formées par la poche de la trompe et le tégument se soudent bord à bord. Finalement, l'ébauche de la trompe se trouve complètement isolée des tissus environnants du blastème antérieur, sauf dans sa partie moyenne où persiste de chaque côté, un trabécule cytoplasmique assez large.La future poche de la trompe n'est alors maintenue en place que par le canal qui la relie à l'épithélium tégumentaire et par les deux trabécules latéraux dont il vient d'être question.

Les muscles rétracteurs latéraux de la poche de la trompe se forment un peu avant l'éclosion.

3 - Formation de la trompe proprement dite.

Les cellules initiales non différenciées en cellules épithéliales constituent un petit massif dans la partie profonde de l'ébauche où apparaissent peu à peu les fibrilles musculaires formant le bulbe basal musculaire de la trompe. Quatre cellules dont les noyaux sont localisés dans la partie médiane et antérieure de l'ébauche en une paire dorsale et une autre ventrale, participent à la formation des bourrelets de la trompe. Le bulbe musculaire dont la section est elliptique se prolonge vers l'avant dorsalement et ventralement par les deux bourrelets longitudinaux cylindroconiques, aussi longs l'un que l'autre et présentant chacun une section semi-circulaire. Dans la partie basale de la trompe, les fibrilles musculaires qui apparaissent au sein du cytoplasme de l'ébauche ont une disposition radiaire dans tous les plans de l'espace. Les myofibrilles des bourrelets musculaires, toujours radiaires, s'associent en lames musculaires orientées transversalement par rapport au plan de symétrie sagittal de l'organe et leur succession donne un aspect annelé à la trompe vue en coupe longitudinale.

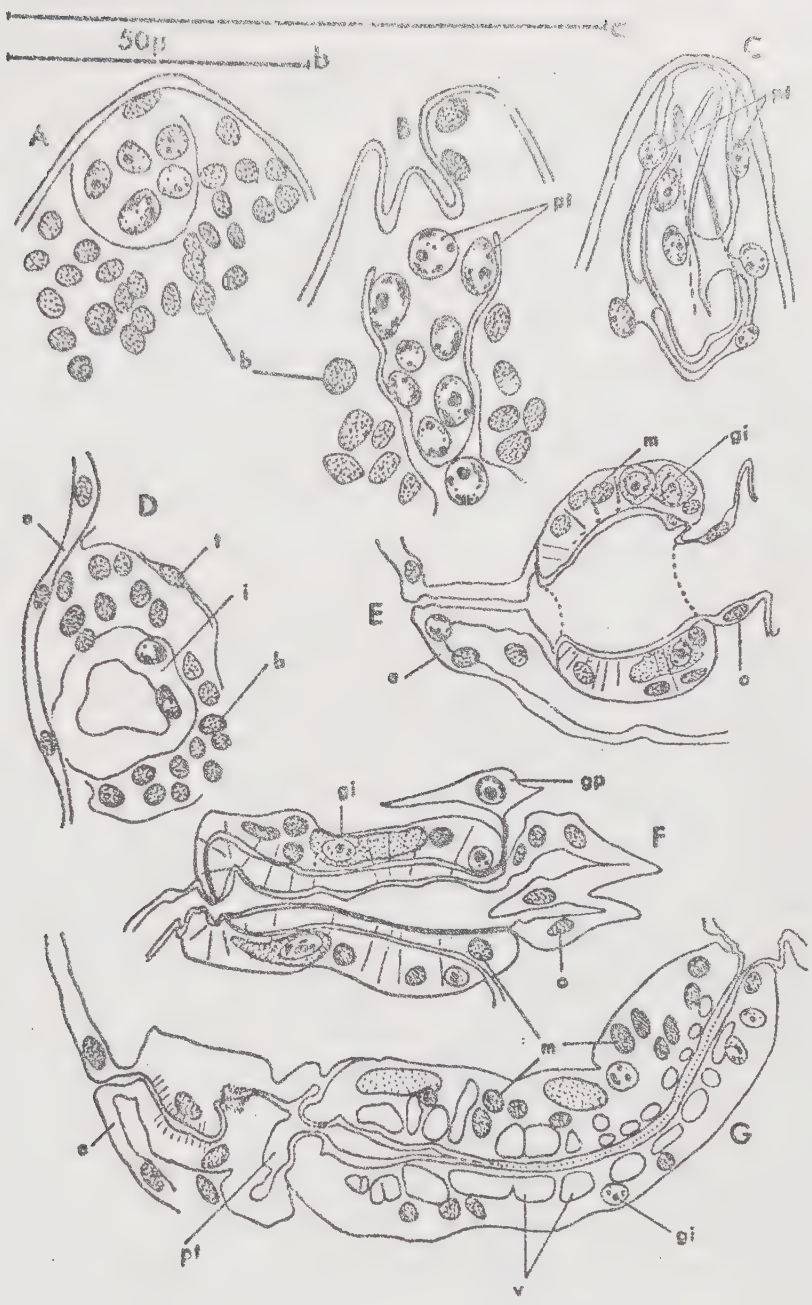


Fig. 16.- Organogenèse de Baltoplana magna.

A, B et C : trois étapes de la formation de la trompe. - D, E, F et G : formation du pharynx.

b : blastomère indifférencié ; c : épithélium tégumentaire ; gi : glande intrapharyngienne ; gp : glande extrapharyngienne ; i : épit lium interne du pharynx ; m : myoblaste ; o : cellule oesophagienne p : poche pharyngienne ; pt : cellule épithéliale de la poche de la trompe ; v : vacuole.

Echelle a valable pour les figs. A à C, b pour les figs. D à G.

A un stade ultérieur du développement, la base de la trompe se creuse d'une cavité centrale. Les bourrelets musculaires longitudinaux se modifient sauf dans leur partie basale où ils conservent une section semi-circulaire. Un peu plus tard, les faces internes de chaque bourrelet se dépriment, si bien qu'ils paraissent biconvexes en coupe. Puis la dépression interne s'accentuant, les bords latéraux du bourrelet se replient en limitant une sorte de rigole étroite. Finalement les bords de chaque bourrelet s'affrontent et se soudent en ménageant un canal central dans le prolongement de la rigole précédente. Pendant la suite du développement, le rapprochement et la soudure des bords des bourrelets musculaires progressent vers l'arrière, de sorte que ces derniers se replient pour constituer une structure annulaire, excepté dans leur partie basale où ils gardent une section semi-circulaire.

Il faut noter qu'à ce stade une différence de taille apparaît entre les deux bourrelets longitudinaux, le dorsal étant légèrement plus long que le ventral. Il est intéressant de signaler que cette différence de longueur se marque dès les premières phases de la formation de la trompe, car les initiales dorsales de l'ébauche prennent au moment de leur apparition, une position un peu antérieure par rapport aux initiales ventrales.

Plus tard, le canal formé par le rapprochement et la soudure des bords latéraux de chaque bourrelet musculaire continue sa progression vers l'arrière. La différenciation de la trompe a débuté par la formation du bulbe basal dont la musculature est progressivement incorporée aux bourrelets longitudinaux après s'être orientée de la même manière. En définitive, la trompe se trouve constituée uniquement par les deux bourrelets longitudinaux annulaires sur toute leur longueur et réunis par leurs extrémités postérieures qui s'affrontent. A ce niveau, les deux canaux internes se soudent à un canal postérieur ayant le même diamètre que chacun d'eux et les mettant en relation avec le bouquet des cellules glandulaires de la trompe en train de se différencier.

Autour des orifices antérieurs de ces canaux glandulaires, apparaissent les deux crochets cuticulaires de la trompe. Ils prennent d'emblée la forme conique allongée un peu incurvée qu'ils auront plus tard chez l'adulte ; ils sont creux, et leur zone d'insertion basale légèrement élargie coiffe l'extrémité de chaque bourrelet musculaire. Aussitôt après leur formation, ils mesurent déjà 15 à 17 μ de long sur 3 μ de large, ce qui représente approximativement la moitié de leurs dimensions définitives.

Latéralement de part et d'autre de la trompe, s'élabore un massif arrondi composé de cellules indifférenciées, issues de la partie antérieure du blastème nerveux. Ce sont les ébauches des glandes latérales de la trompe comptant chacune une trentaine ou une quarantaine de cellules qui s'entourent d'une mince tunique épithéliale. Celle-ci se prolonge au niveau des trabécules cytoplasmiques latéraux par un diverticule latéral qui se soude à l'épithélium limitant la poche de la trompe. Au voisinage du débouché de chacun de ces canaux, l'épithélium de la poche présente une excroissance conique, allongée vers l'avant de l'animal, et formant une sorte de papille latérale par laquelle se déverseront ultérieurement les produits de sécrétion des glandes latérales. Avant l'éclosion, la plupart des cellules constituant ces glandes manifestent déjà les premiers signes de leur différenciation future : accroissement important du volume nucléaire, perte de la colorabilité de la caryolymphe, répartition de la chromatine sous forme de granulations denses et apparition d'un nucléole.

Enfin, peu de temps avant l'éclosion, les cellules épithéliales qui tapissent la partie interne de chaque bourrelet de la trompe, prennent un aspect claviforme en raison du développement assez considérable de leur pôle antérieur. Ainsi, se constitue à l'avant de la trompe une sorte de bouquet de cellules épithéliales, considérées par Karling (1949) comme des cellules sensorielles tactiles.

4 - <u>Formation des glandes latérales de la musculature motrice de la trompe</u>.

Un certain nombre de cellules regroupées en arrière du pôle postérieur de l'ébauche se différencient, à la fin de la période embryonnaire, en donnant les cellules glandulaires de la trompe.

D'autres blastomères se transforment en myoblastes qui réalisent la musculature motrice de la trompe. Celle-ci compte deux paires de muscles rétracteurs qui se mettent en place en même temps que les bourrelets musculaires longitudinaux.

D. - PHARYNX (Fig. 16).

1 - <u>Formation de l'ébauche pharyngienne</u>.

Quand la mise en place des ébauches embryonnaires se termine, le blas

tème pharyngien ne compte pas plus d'une centaine de cellules, groupées en un massif hémisphérique plaqué à la face interne de l'épithélium ventral de l'embryon. Avant même que s'individualisent les premières fibres nerveuses des ganglions cérébroïdes, quelques blastomères situés à peu près au centre de l'ébauche pharyngienne se rassemblent tout en prenant les caractères cytologiques des cellules en activité.

2 - Formation du canal pharyngien.

Lorsque six à huit blastomères différenciés se sont ainsi groupés, leurs membranes cytoplasmique se disjoignent dans la partie centrale du massif qu'ils constituent, créant une cavité qui préfigure le canal pharyngien. Le creusement du massif cellulaire détermine l'accroissement ultérieur de cette poche interne. Elle est complètement close, localisée en plein centre de l'ébauche pharyngienne dont la sépare cette sorte d'épithélium. En raison de l'augmentation du volume intérieur de la cavité, les parois épithéliales qui la bordent viennent s'appliquer progressivement le long de la face interne du tégument ventral de l'embryon.

L'accroissement important du volume du canal pharyngien qui atteint alors près de 30 µ de diamètre est dû à l'étirement du cytoplasme des cellules épithéliales bordantes. Ce phénomène est particulièrement net dans la partie profonde de l'ébauche où cet épithélium ne dépasse pas 1,5 µ , et le long de la paroi ventrale où il se soude à l'épithélium tégumentaire en une membrane unique d'environ 3 µ d'épaisseur. Un large épaississement cytoplasmique annulaire où s'alignent tous les noyaux qui ont participé à la formation de la cavité pharyngienne, tend à la subdiviser en deux parties : l'une ventrale s'étend sous le tégument et forme la poche pharyngienne proprement dite, l'autre interne plus volumineuse que la précédente constitue le canal pharyngien.

Un peu plus tard, la poche pharyngienne se met en communication avec l'extérieur par le percement de l'orifice buccal. D'autre part, en raison d'un enfoncement progressif du pharynx vers l'intérieur et l'arrière du corps de l'embryon, la poche pharyngienne s'allonge en formant un conduit qui s'élargit seulement autour de l'extrémité antérieure du pharynx. Le canal formé par cette élongation paraît d'autant plus étroit que son épithélium jusque-là très mince s'épaissit notablement pour atteindre 3 à 4 µ.

A la fin de la période embryonnaire le canal à lumière étroite qui reliait l'extrémité antérieure du pharynx à la bouche, s'élargit de façon remarquable sans pour autant se raccourcir. Cet accroissement du diamètre de la poche pharyngienne est due à une régression considérable de l'épaisseur de son épithélium qui présente néanmoins une surface très irrégulière et parsemée de "papilles" internes persistant d'ailleurs chez l'adulte.

3 - Différenciation de la paroi pharyngienne.

Après la mise en place de l'épithélium interne, les cellules encore indifférenciées du blastème pharyngien s'ordonnent régulièrement en une assise unicellulaire enveloppant toute la partie profonde de la cavité. Seuls quelques blastomères localisés en marge de l'ébauche, au contact du vitellus environnant, ne s'orientent pas de la sorte. Ils sont destinés à produire la tunique et les fibres motrices musculaires du pharynx. Un certain nombre de blastomères repoussés en profondeur par le développement de la poche pharyngienne vont se différencier ultérieurement pour donner les cellules glandulaires extrapharyngiennes.

Autour de l'ébauche du canal pharyngien, les blastomères se rassemblent en une assise unistratifiée de cellules prismatiques hautes dont les noyaux volumineux, clairs et à gros nucléole, occupent la partie la plus profonde.

Les cellules périphériques indifférenciées du blastème pharyngien se répartissent à peu près régulièrement tout autour de l'organe qui se forme, et constituent une membrane mince le séparant du vitellus environnant. Cette membrane formée d'une seule assise cellulaire est adhérente aux cellules pharyngiennes, sauf au sommet de l'ébauche où elle ménage une cavité oesophagienne très restreinte qui s'agrandira progressivement pour constituer l'intestin. Un canal oesophagien étroit, tapissé par l'épithélium de la poche pharyngienne, se perce très tôt entre les ébauches du canal pharyngien et la cavité oesophagienne.

A cette étape du développent, les cellules glandulaires extrapharyngiennes ont déjà acquis leurs principaux caractères cytologiques: leur noyau a doublé ou triplé de volume et contient un à trois nucléoles, tandis que leur cytoplasme prend une coloration violacée avec les laques d'hématoxyline. Les corps cellulaires des glandes extrapharyngiennes sont situées à une certaine distance du bord de l'orifice oesophagien sur leque

ils s'insèrent par une longue protubérance cylindrique de leur cytoplasme.

Le canal oesophagien s'élargit ensuite progressivement, mais sans augmentation du volume du pharynx. Les cellules oesophagiennes, après s'être soudées à l'épithélium qui tapisse le canal pharyngien jusqu'à l'oesophage, étirent leur cytoplasme ainsi que leur noyau qui devient fusiforme, et agrandissent l'ébauche de l'oesophage.

Un peu plus tard, des myofibrilles intrapharyngiennes circulaires et quelques autres longitudinales font leur apparition sous l'épithélium, tout le long de la paroi du canal pharyngien et avant que se différencient les fibrilles radiaires. De plus, les cellules pharyngiennes proprement dites se diversifient et celles qui sont situées autour de l'orifice oesophagien prennent un aspect glandulaire. Ces transformations se réalisent sans augmentation sensible de la taille du pharynx qui mesure alors une trentaine de μ de long sur environ 40 μ de diamètre maximum. En coupe transversale, il présente une section circulaire sur laquelle on peut dénombrer de 20 à 25 cellules. C'est à ce stade également que se mettent en place les principaux muscles moteurs pharyngiens.

Au moment où l'épithélium tégumentaire commence à se différencier dans la région antérieure de l'embryon, le pharynx subit des remaniements anatomiques qui se déroulent d'une façon extrêmement rapide. D'une part, il s'allonge dans des proportions considérables et passe de 30 μ à 100 μ de long ; à partir de ce moment, sa forme est celle d'un segment cylindrique court, à parois relativement peu épaisses et creusé d'un large canal central. D'autre part, l'épaisseur de ses parois qui était de l'ordre de 7 à 8 μ atteint maintenant une quinzaine de microns et la lumière interne du canal pharyngien se réduit énormément jusqu'à devenir virtuelle. Pendant cette phase d'accroissement, la partie antérieure du pharynx ne se déplace pas, mais sa partie postérieure et l'intestin qu'elle entraîne avec elle, se trouvent repoussés à l'intérieur du corps de l'embryon, vers l'arrière et le dos. L'augmentation du volume du pharynx ne résulte pas d'une multiplication des cellules de cet organe mais de la formation de grosses vacuoles intracellulaires apparaissant tout d'abord dans la moitié antérieure puis dans la totalité du pharynx.

Le pharynx ayant acquis sa taille définitive subit encore un certain nombre de complications anatomiques. Il se creuse en particulier d'un système de canaux longitudinaux dans lesquels se déversent les produits éla-

borés par les glandes extrapharyngiennes. Comme chez l'adulte, ces conduits débouchent à l'extrémité du bourrelet pharyngien dans sa région ventrale, et un peu plus en arrière dans sa partie dorsale. En même temps, les cellules glandulaires intrapharyngiennes se développent et l'extrémité antérieure du pharynx s'allonge en une sorte de bourrelet annulaire préhensile. Sur les coupes transversales, le pharynx parvenu à ce stade est ovoïde et comprimé dorsoventralement ; sa lumière centrale aplatie est beaucoup plus large que haute, sauf dans sa partie postérieure où elle demeure plus ou moins cylindrique.

Les cellules intestinales prennent leur aspect définitif ; les noyaux elliptiques deviennent ovoïdes puis subsphériques, le cytoplasme s'épaissit progressivement pour atteindre une dizaine de μ et acquiert une texture finement granuleuse. Certaines cellules intestinales amorcent leur différenciation en cellules glandulaires digestives.

Quelques jours avant l'éclosion, les fibres musculaires internes circulaires et longitudinales prennent de l'importance, cependant que la musculature radiaire encore peu abondante se complète très rapidement. Dans la partie postérieure du pharynx, les myofibrilles radiaires apparaissent entre celles qui existent déjà et se répartissent régulièrement sur toute la circonférence. Dans la région antérieure, en revanche, de nouvelles myofibrilles s'associent pour constituer des faisceaux musculaires parallèles. Grâce à cette particularité structurale, le pharynx est partagé en deux parties anatomiquement distinctes avant l'éclosion.
Les fibres radiaires sagittales dorsales et latéroventrales droites et gauches étant nettement plus courtes que les autres, déterminent une déformation permanente de la lumière pharyngienne dont la section est triangulaire.

La musculature pharyngienne externe se met en place en même temps que les fibres nouvelles des muscles radiaires. Elle comprend deux couches musculaires : l'une interne à fibres longitudinales, l'autre externe à fibres circulaires.

En dessous de l'épithélium mince et de la musculature interne du pharynx, les coupes transversales permettent d'observer les sections des canaux des glandes extrapharyngiennes situées sous la tunique musculaire externe.

E. - ORGANES GENITAUX.

Au moment où se mettent en place les principales ébauches embryonnaires on observe ventralement, en arrière du blastème pharyngien et immédiatement sous l'épithélium, un rassemblement transitoire d'une dizaine de cellules qui représente vraisemblablement le blastème génital dont l'apparition est donc très précoce. Mais ces cellules se dispersent très rapidement dans le corps de l'embryon pour réapparaître dans sa partie postérieure, après les premières étapes de la différenciation du pharynx. Il se forme alors deux ébauches symétriques distinctes qui évoluent simultanément et de la même façon. Les cellules qui constituent le pôle antérieur de chacune de ces ébauches, manifestent un lent accroissement de leur volume cytoplasmique et formeront le vitellogène. Une partie des cellules situées immédiatement en arrière de celles-ci subissent en revanche, un accroissement important des volumes cytoplasmique et nucléaire et forment les initiales des germigènes.

Par la suite, la partie antérieure de chaque ébauche va se développer un peu vers l'arrière mais surtout vers l'avant de l'animal, formant ainsi un cordon cellulaire jusqu'au niveau du pharynx. Les deux vitellogènes qui se trouvent ainsi constitués vont poursuivre leur différenciation durant les dernières étapes de la vie embryonnaire. A l'éclosion ils ont presque leur structure définitive ; les cellules vitellines de forme ovoïde mesurent jusqu'à 15 μ de long, et possèdent un noyau presque sphérique de 7 μ de diamètre nucléolé et à la chromatine pariétale.

Les deux germigènes s'édifient à partir des cellules postérieures des ébauches. Leur zone germinative où l'on observe de nombreuses divisions nucléaires se constitue dorsalement et postérieurement ; la différenciation des ovocytes a lieu dans la partie ventrale et antérieure du germigène. Lorsque l'embryon éclôt, les ovocytes les plus avancés sont déjà en phase de grand accroissement et leurs dimensions peuvent atteindre alors 30 μ de long sur 15 μ de large ; leur noyau ovoïde long de 10 μ et large de 5 μ est muni d'un gros nucléole central sphérique de 3 μ de diamètre, et renferme une chromatine pariétale filamenteuse. A ce stade, les deux germigènes sont séparés des autres tissus par une étroite membrane épithéliale.

Tandis que se différencient les cellules des germigènes et des vitellogènes dans la partie postérieure de l'embryon, les initiales génitales mâles apparaissent latérodorsalement et un peu en avant du pharynx. Il est difficile de savoir si ces cellules ont la même origine que les autres initiales germinales ou si elles proviennent du blastème antérieur tout proche

Les ébauches des deux testicules sont ainsi mises en place et vont s'accroître modérément jusqu'à l'éclosion qui a lieu avant le début de la spermatogenèse.

Lorsque l'animal sort de la capsule ovigère, le tractus génital n'est pas encore constitué mais chez certains individus il se produit un rassemblement cellulaire, un peu en avant des germigènes : ce doit être le prélude de la formation de l'organe copulateur ou de l'atrium génital commun dont la formation n'a malheureusement pas pu être suivie.

VI. - ANATOMIE DE L'ANIMAL A L'ECLOSION.

En définitive les jeunes Blatoplana qui s'échappent de la capsule ovigère mesurent de 0,6 à 0,7 mm de longueur. Leur anatomie, comme on a pu le constater dans les pages précédentes, est pratiquement celle de l'adulte pour la plupart des organes : tégument, ganglions cérébroïdes, trompe, appareil digestif, vitellogènes et germigènes. Seuls les testicules ne sont pas encore fonctionnels et leurs initiales viennent tout juste de se rassembler pour former les deux ébauches latérales. De même, les annexes génitales ne sont pas encore différenciées.

Par rapport aux deux autres Calyptorhynques étudiés, Baltoplana éclôt donc avec une structure anatomique bien plus avancée. En contrepartie, il faut constater que le développement embryonnaire de cette espèce est particulièrement lent puisqu'il dure au moins six semaines à la température de 16-18° C.

Cet allongement de la vie embryonnaire qui s'accompagne, comme on vient de le signaler d'une condensation du développement, aboutit à la libération de jeunes animaux dont la structure est presque celle des adultes et certainement le résultat d'une adaptation au milieu mésopsammique dont Baltoplana magna est un représentant caractéristique. Cette hypothèse est d'ailleurs confirmée par l'étude du développement de quelques autres

espèces mésopsammiques : Prognathorhynchus typhlus (Gnathorhynchidae) et Proschizorhynchus anophthalmus (Schizorhynchidae) dont le développement embryonnaire est également très lent.

Une autre confirmation de ce point de vue peut être tirée du fait que les cellules de l'embryon et de l'adulte sont en nombre limité chez les formes mésopsammiques (Swedmark, 1955 et 1964 ; Delamare-Deboutteville, 1960). En conséquence pour atteindre, ainsi que le fait B. magna, un degré de complexité anatomique à peu près comparable à celui des autres espèces, les mêmes blastomères sont amenés à assumer successivement plusieurs fonctions différentes, ce qui prolonge évidemment la durée du développement embryonnaire.

CHAPITRE VIII

DISCUSSION ET COMPARAISON.

Avant d'entreprendre l'étude comparative du développement embryonnaire des Calyptorhynques et des autres groupes de Turbellariés, il n'est sans doute pas inutile de regrouper les principaux résultats exposés au cours des chapitres précédents.

Comme chez tous les autres Turbellariés à ponte ectolécithe, le développement embryonnaire des Calyptorhynques se déroule en totalité à l'intérieur de la capsule ovigère et qui renferme un ou plusieurs ovocytes fécondés et un nombre plus ou moins élevé de cellules vitellines qui oscille en moyenne entre 80 et 100 par ovule.

Les capsules de la majorité des espèces connues sont fixées sur le substrat au moment de la ponte mais le développement commence parfois à l'intérieur du corps du parent. L'incubation complète des embryons qui demeurent néanmoins un phénomène exceptionnel chez les Calyptorhynques, à déjà été signalée chez les genres _Austrorhynchus_, _Rogneda_ et _Utelga_ (Karling, 1952 et 1953 ; Ax, 1959 et Brunet 1965).

I. - CARACTERES GENERAUX DU DEVELOPPEMENT DES CALYPTORHYNQUES.

A. - SEGMENTATION.

Des études embryologiques exposées plus haut, se dégagent deux modalités distinctes de segmentation, d'une part celle d'_Acrorhynchides robustus_ et _Baltoplana magna_, d'autre part celle de _Polycystis nägelii_. Les observations préliminaires réalisées sur le développement de _Gyratrix hermaphroditus_ (Polycystidae), _Prognathorhynchus typhlus_ (Gnathorhynchidae) et _Proschizorhynchus anophthalmus_ (Schizorhynchidae) semblent indiquer que la segmentation de ces espèces se rapproche beaucoup de celle d'_A. robustus_ et _B. magna_.

Les espèces énumérées ci-dessus représentent diverses familles appartenant soit aux Schizorhynques, soit aux Eucalyptorhynques. Il semble donc, sans généralisation abusive, que cette modalité de la segmentation soit celle de la plupart des Calyptorhynques, d'autant plus qu'il ne faut pas perdre de vue le caractère particulier de la ponte à plusieurs embryons de Polycystis nägelii, cas exceptionnel à l'intérieur du groupe.

1 - Cas général.

Comme on l'a vu précédemment, le premier fuseau de segmentation apparaît dans un plan incliné par rapport à celui de l'axe polaire de l'oeuf et cette première division toujours très inégale produit constamment le micromère dans la région animale de l'embryon.

Le fuseau de la seconde division de segmentation est situé dans un plan orthogonal par rapport à l'axe du fuseau de première division et le second blastomère s'isole par une cloison longitudinale tangentielle dans la moitié animale du macromère végétatif.

Durant la division suivante, le fuseau de segmentation ne change pas d'orientation et le troisième blastomère s'individualise par un cloisonnement tangentiel localisé dans la région végétative du macromère. C'est aussi dans cette région du macromère, à l'opposé du point d'attache du premier blastomère, qu'apparaît le blastomère 4.

Jusqu'a ce stade, les figures de segmentation sont strictement identiques chez A. robustus et B. magna.

Chez A. robustus, un cinquième clivage donne naissance à un nouveau blastomère au pôle végétatif de l'embryon et la division suivante assure une équipartition transversale du macromère.

Chez B. magna, la cinquième division clive le macromère dans un plan équatorial en deux blastomères de taille équivalente.

En définitive, la segmentation des Calyptorhynques isole d'abord deux blastomères de part et d'autre du pôle animal de l'embryon puis deux ou trois autres dans sa zone végétative avant qu'un cloisonnement équatorial assure l'équiparitition du macromère.

2 - Cas de Polycystis nägelii.

Comme chez les autres Calyptorhynques, la segmentation débute par l'apparition d'un petit blastomère au pôle animal de l'oeuf, mais le fuseau qui

lui a donné naissance s'allonge suivant l'axe polaire comme les fuseaux de maturation qui l'ont précédé .

Le second blastomère s'individualise par une division perpendiculaire à l'axe polaire, sur le flanc du macromère dont il se sépare par une cloison tangentielle.

C'est à partir du troisième clivage que l'on observe des différences importantes entre la segmentation de Polycystis et celle des autres Calyptorhynques. En effet, le fuseau de division reprend alors une orientation parallèle à l'axe polaire et isole par une cloison oblique le blastomère 3, non pas au pôle végétatif mais à l'opposé, immédiatement sous le macromère 1.

L'orientation du fuseau ne change plus pendant la quatrième division qui isole un nouveau blastomère au pôle animal de l'embryon.

Enfin un cinquième clivage transverse comme le précédent divise le macromère végétatif en deux cellules de taille égale.

Il est intéressant de remarquer que la séquence des divisions est la même chez P. nägelii et Baltoplana magna qui ne diffèrent que par l'orientation des troisième et quatrième clivages de segmentation. Chez Polycystis, en raison de la permanence de l'orientation et de la position du fuseau de segmentation dans la moitié animale du macromère, les blastomères 3 et 4 sont émis l'un au-dessous de l'autre au pôle animal de l'embryon.

3 - Remarques.

Il est curieux de constater que chez les trois espèces étudiées les blastomères isolés depuis le début de la segmentation n'entrent pas en division tant que le macromère n'a pas achevé son cycle de segmentation et son équipartition. Mais lorsque celle-ci s'achève, les blastomères 2 et 3 se clivent à leur tour, puis les blastomères 1 et 4. Cette succession se retrouve dans tous les cas, soulignant ainsi la détermination rigoureuse de l'ordre des clivages et même la constance de leur orientation, en dépit des différences de structure des embryons.

On retiendra également le fait que les premières phases de la segmentation laquelle semble générale chez la majorité des Calyptorhynques, présentent les caractéristiques d'un développement de type spiral considéré comme le mode ancestral de segmentation chez les Turbellariés. On doit même constater que la succession et l'orientation des clivages sont analogues

à celles que l'on observe chez l'un des quatre blastomères initiaux d'un oeuf à développement spiral. Chez les Calyptorhynques, tout se passe donc comme si les deux premières divisions méridiennes du développement spiral (ou la première seulement, si on se refère au développement des Acoeles) étaient purement et simplement escamotées au cours de l'ontogenèse.

Chez Polycystis nägelii en revanche, seules les deux premières divisions manifestent un caractère de développement spiral qui s'estompe à partir du troisième clivage, en raison de l'orientation permanente du fuseau qui s'étire alors plusieurs fois de suite selon le même axe que le fuseau de la première division de segmentation. Le caractère spiral du développement tel qu'il a pu être mis en évidence, apparaît donc ici masqué secondairement par l'acquisition d'un axe privilégié qui impose une orientation déterminée et constante aux quatre clivages suivants.

On peut d'ailleurs se demander si les particularités du début de la segmentation chez P. nägelii ne sont pas dues au fait que la ponte renferme de nombreux embryons, alors que celle des autres Calyptorhynques n'en contient normalement qu'un ou deux. Cependant, sans préjuger du développement encore inconnu des quelques autres Calyptorhynques à ponte pluriembryonnée, on peu noter dès à présent que la tendance à former des embryons constitués d'une simple file de blastomères alignés a été signalée à plusieurs reprises chez divers Plathelminthes qui ne possèdent pas nécessairement des pontes à plusieurs embryons.

2 - Multiplication cellulaire.

Après cette segmentation précoce, la multiplication cellulaire se poursuit mais intéresse désormais l'ensemble des blastomères formant l'embryon et non plus une seule cellule. Jusqu'au stade d'une vingtaine de cellules, les blastomères se divisent dans un ordre déterminé qui est toujours le même pour les embryons d'une espèce donnée mais diffère totalement d'une espèce à l'autre. Au début de cette phase de multiplication cellulaire, les crises mitotiques touchent seulement un nombre limité de blastomères ; par la suite, les vagues mitotiques se succèdent de plus en plus rapidement, de sorte que l'embryon présente toujours de nombreuses cellules en division. Il se forme ainsi une morula à contour irrégulier, plus longue que large et contenant quelques blastomères plus volumineux dans sa partie centrale. A la fin de la multiplication, les crises mitotiques s'espacent

et ne concernent plus qu'un nombre restreint de blastomères. A ce stade, l'embryon est constitué de blastomères identiques et forme une morula ovoïde, plus ou moins régulière au milieu des cellules vitellines qui l'entourent.

B. - FORMATION DE L'EMBRYON.

1 - Absorption du vitellus.

a - Cas général.

Chez les Calyptorhynques, la fragmentation de la masse vitelline est due à la migration précoce d'un nombre limité de blastomères qui abandonnent le massif embryonnaire et parviennent au contact de la coque ovigère où ils s'étalent en une étroite membrane embryonnaire. Généralement, les membranes embryonnaires des embryons d'une même capsule apparaissent d'abord aux deux pôles de la ponte ; elles progressent ensuite le long de la paroi jusqu'à l'équateur où elles s'affrontent, puis pénètrent côte à côte dans la masse vitelline qui se trouve peu à peu découpée comme par un diaphragme. Chaque membrane embryonnaire se referme finalement sur elle-même en isolant une masse de cellules vitellines autour d'un embryon. Les quelques cellules vitellines demeurées par hasard en dehors des membranes, dégénèrent rapidement.

b - Cas de *Polycystis nägelii*.

Chez cette espèce le découpage de la masse vitelline précède très nettement la formation de la membrane embryonnaire. Au cours de la phase de multiplication cellulaire, l'embryon et les cellules vitellines périphériques se contractent sensiblement de telle sorte que le contenu du cocon d'abord homogène se clive progressivement entre les embryons. Le processus se poursuit jusqu'à la fragmentation complète de l'ensemble des cellules vitellines qui se regroupent en une couche épaisse autour de chaque embryon. La membrane embryonnaire qui se forme comme chez les autres Calyptorhynques apparaît seulement lorsque les embryons sont complètement isolés les uns des autres. Cette particularité du développement embryonnaire est incontestablement un phénomène adaptatif, dû à la présence d'un grand nombre d'embryons à l'intérieur d'une même ponte.

c - Remarques.

Il est intéressant de noter que la mise en place des membranes embryonnaires est strictement synchrone dans une même ponte, ce qui permet de supposer qu'elle est déterminée ou contrôlée par un facteur qui diffuse dans la totalité de la capsule ou du cocon.

Comme on a pu le constater chez *Baltoplana magna* (observation personnelle) ou *Prognathorhynchus typhlus* (Brunet, in litt.), il arrive mais de façon tout à fait exceptionnelle, que les deux individus libérés par l'éclosion d'une même ponte soient reliés l'un à l'autre par un trabécule cytoplasmique plus ou moins large recouvert par l'épithélium tégumentaire. Chez *B. magna*, il s'agit manifestement d'une fusion partielle des deux embryons contenus dans la ponte et cette fusion résulte très vraisemblablement d'une suture accidentelle de leurs membranes embryonnaires. Chez *P. typhlus* comme chez certains Macrostomides, la coque ovigère renferme normalement un seul ovule et les "individus siamois" qui ont été signalés peuvent provenir :

1) de la présence exceptionnelle de deux oeufs dans une même capsule ;

2) de la fragmentation d'un embryon unique en deux parties, isolées de façon traumatique et évoluant chacune pour son compte ;

3) ou peut-être même d'un oeuf normal et d'un globule polaire géant fécondé, comme cela a été observé chez certains Polyclades (Francotte, 1897 et 1898).

2 - Mise en place des blastèmes embryonnaires.

Après la formation de la membrane embryonnaire, le massif des cellules embryonnaires se dissocie et les blastomères se déplacent parmi les cellules vitellines qui se trouvent progressivement repoussées dans la partie centrale de l'embryon. La progression des blastomères se réalise essentiellement par amoeboïsme et, dans certains cas, par la multiplication orientée des cellules embryonnaires.

Quelques auteurs n'ont pas hésité à comparer ces mouvements morphogénétiques extrêmement importants qui se retrouvent chez la plupart des Ectolécithophores, à la formation épibolique d'une blastula. Toutefois en raison de leur apparition très tardive, ces phénomènes ne peuvent en aucune façon être homologués à la formation d'une blastocoele qui bien qu'exceptionnelle chez les Turbellariés Ectolécithophores, a été observée chez des

espèces à développement typiquement spiral comme Otomesostoma auditivum (Reisinger, 1955, p. 144-146) et Monocelis fusca où elle se forme au stade 8 blastomères (Giesa et Ax, 1964 ; Giesa, 1966). A la fin de cette phase de dispersion, les blastomères se sont éparpillés de façon apparemment anarchique à la périphérie du vitellus de l'embryon. Dans ces conditions, il paraît impossible de reconnaître un ectoderme et un endoderme comme le font certains auteurs.

Le regroupement des cellules embryonnaires s'organise d'une part, à l'une des extrémité de l'embryon où se constituent deux très gros blastèmes voisins qui formeront ultérieurement l'ébauche des ganglions cérébroïdes et d'autre part, sur l'une de ses faces où apparaît un troisième blastème bien plus petit que les précédents et qui constitue l'ébauche pharyngienne. A ce stade, le blastème génital n'existe pas car il se différencie beaucoup plus tardivement chez les Calyptorhynques.

C. - ORGANOGENESE.

C'est durant cette dernière étape du développement embryonnaire que s'édifient la plupart des organes de l'animal. A l'éclosion, celui-ci possède à peu près la structure anatomique de l'adulte, excepté les organes de l'appareil reproducteur qui se différencient pendant la vie postembryonnaire.

1 - Tégument.

L'épithélium épidermique provient de la différenciation sur place de la membrane embryonnaire dont les cellules s'épaississent, se couvrent d'une ciliature externe et élaborent des rhabdites. Cette évolution se produit tout d'abord dans les zones situées au contact immédiat des blastèmes, puis à partir de là s'étend le long des flancs et sur le ventre de l'embryon, avant de s'achever dans la région dorsale. La différenciation n'est donc pas simultanée sur tout le corps et les parties antérieures présentent longtemps une certaine avance par rapport aux régions dorsales et postérieures. Néanmoins à l'éclosion, toute la surface de l'animal est recouverte d'un épithélium d'épaisseur uniforme et complètement cilié.

En même temps que se différencie l'épithélium tégumentaire, les cellules les plus superficielles des blastèmes s'ordonnent en une assise unicellulaire régulière, doublant l'épithélium vers l'intérieur du corps et

donnant ainsi naissance à la musculature tégumentaire particulièrement développée à l'extrémité antérieure du corps et autour du pharynx.

Dans la autres régions de l'animal, la musculature tégumentaire s'organise progressivement par une migration des blastomères indifférenciés qui se déplacent de l'avant vers l'arrière de l'embryon. Parvenus au terme de leur progression, les futurs myoblastes s'étalent sous la membrane embryonnaire avant l'apparition des premières myofibrilles.

Il est intéressant de remarquer que la musculature tégumentaire et l'épithélium épidermique se différencient simultanément en un point donné de la surface de l'embryon. De même que l'épithélium épidermique, la musculature tégumentaire s'organise en priorité à l'extrémité antérieure et dans la région pharyngienne. La formation des myofibrilles dermiques circulaires et longitudinales se réalise plus lentement que la différenciation de l'épithélium et, au moment de l'éclosion, la musculature de l'animal n'est complète qu'à l'avant et sur sa face ventrale.

2 - Système nerveux.

Les ganglions cérébroïdes se forment très précocement à partir des deux blastèmes antérieurs, comme chez tous les autres Turbellariés. Les fibres nerveuses apparaissent séparément dans chaque blastème antérieur dont elles occupent le centre en refoulant les noyaux à la périphérie. Très rapidement, le faisceau de fibres de chacun des blastèmes s'élargit en formant un ganglion indépendant. Mais bientôt l'accroissement des fibres nerveuses qui se fait perpendiculairement au plan sagittal de l'embryon, provoque l'apparition d'une commissure transversale reliant les deux ganglions et réunissant les deux blastèmes jusque-là indépendants.

Par la suite, les principaux nerfs se différencient à partir des ganglions cérébroïdes : deux paires sont antérieures et une troisième est latérale et recourbée vers l'arrière. Les troncs nerveux antérieurs restent courts durant toute la vie embryonnaire, tandis que deux troncs latéraux se forment sur le bord des ganglions cérébroïdes et que leurs fibres s'étirent progressivement vers l'arrière en entraînant avec elles les corps cellulaires d'une partie des neuroblastes.

Chez Acrorhynchides robustus et Polycystis nägelii, les taches oculaires se forment en avant de chaque ganglion cérébroïde. Comme chez Paravortex gemellipara (Ball, 1916), le cytoplasme des deux cellules sensorielles se

remplit de granules pigmentés qui se regroupent en cupules, avant que se constituent les faisceaux de fibres nerveuses des deux nerfs optiques.

3 - La trompe.

Cet organe qui est l'une des particularités anatomiques des Calyptorhynques, s'édifie à partir d'un massif de blastomères qui se placent en avant des deux blastèmes antérieurs dont ils sont issus. Ces initiales de la trompe se regroupent très rapidement en une petite ébauche impaire et interne qui s'isole entre les myoblastes tégumentaires et les neuroblastes des ganglions cérébroïdes.

Au pôle rostral de l'ébauche, les cellules s'écartent les unes des autres en délimitant une cavité correspondant à la future poche de la trompe. Pendant ce temps, presque tous les blastèmes localisés à l'extrémité postérieure de l'ébauche se différencient en myoblastes pour constituer la trompe proprement dite.

a - Cas des Polycystidae.

Chez *Acrorhynchides robustus* et *Polycystis nägelii*, les fibres musculaires du cône terminal apparaissent en premier, puis celles du bulbe post-rostral. Les quelques blastomères restés indifférenciés jusqu'à ce stade prennent progressivement un caractère de cellules glandulaires. La cavité de la poche de la trompe s'accroît tandis que les cellules qui l'entourent se différencient en un épithélium pavimenteux unistratifié. En s'allongeant vers l'avant, la poche refoule son épithélium qui vient finalement s'appliquer dans la région rostrale à la face interne du tégument où se différencie un sphincter musculaire. C'est au niveau de ce sphincter que se percera quelques jours seulement avant l'éclosion, l'orifice externe de la poche de la trompe.

b - Cas de Baltoplana magna.

La formation de la trompe présente ici un certain nombre de particularités par rapport à la description précédente. Le massif cellulaire constituant l'ébauche de la trompe se forme immédiatement au-dessous de l'épithélium tégumentaire. Au moment où l'ébauche se constitue, on observe à l'extrémité rostrale de l'embryon la mise en place d'une invagination de l'épithélium externe qui s'enfonce progressivement vers l'arrière du corps

et vient se mouler sur toute l'extrémité apicale de l'ébauche. Les cellules superficielles de celle-ci forment bien un épithélium qui délimite une cavité étroite correspondant à la poche de la trompe qui ne se développe pratiquement pas chez cette espèce et dont l'épithélium vient se souder à l'extrémité postérieure de l'invagination épidermique. Comme la poche de la trompe ne s'allonge pas au cours de la vie embryonnaire, elle s'ouvrira au fond de cette digitation tégumentaire qui s'est d'ailleurs appronfondie entre temps, et dont la limite est nettement marquée par un bourrelet annulaire persistant chez l'adulte.

Quatre blastomères localisés dans la partie moyenne et antérieure du massif cellulaire, forment les deux bourrelets musculaires qui découpent longitudinalement l'extrémité conique de cette ébauche, tandis que les cellules de sa partie profonde se différencient en myoblastes pour constituer le bulbe post-rostral. A l'extrémité des deux bourrelets musculaires apparaissent très tôt les crochets cuticulaires qui prennent d'emblée leur forme caractéristique. Les glandes de la trompe se forment latéralement à partir des blastomères provenant non pas de l'ébauche de la trompe, mais des blastèmes antérieurs. La musculature motrice de la trompe s'édifie à partir de quelques myoblastes localisés à la périphérie de l'ébauche.

c - Remarques.

En définitive, il apparaît que le développement de la trompe des Calyptorhynques se réalise à partir d'une ébauche impaire et interne rassemblant un nombre limité de blastomères provenant des deux blastèmes antérieurs, et que l'épithélium tégumentaire ne joue aucun rôle dans sa différenciation, même chez *Baltoplana magna* où il constitue en fait un simple canal mettant la poche de la trompe en communication avec l'extérieur. Par les modalités de sa formation, la trompe des Calyptorhynques diffère donc très nettement de celle des Némertes qui se constitue toujours à partir d'une invagination de l'épithélium épidermique de l'embryon (Barrois, 1877 ; Nussbaum et Oxner, 1913 ; Salensky, 1914 ; Hammarsten, 1918 ; Reisinger, 1926 et Reinhardt, 1940).

D'autre part, il est intéressant de noter qu'au moment de l'éclosion la trompe possède sa structure définitive même lorsque celle-ci est très complexe ou présente des différenciations cuticulaires comme dans le cas des Karkinorhynchidae (*Baltoplana magna*) ou des Gnathorhynchidae (*Prognathorhynchus typhlus*, par exemple). On peut même remarquer que la trompe

des Calyptorhynques est proportionnellement plus développée chez les animau récemment éclos que chez les adultes.

4 - Appareil digestif.

Les organes de l'appareil digestif s'organisent à partir du blastème impair médio-ventral, regroupant un petit massif à peu près sphérique de blastomères indifférenciés.

Une délamination des cellules centrales du blastème provoque la formation de la lumière interne du pharynx. Cette cavité s'allonge perpendiculairement à la face ventrale de l'embryon et se subdivise rapidement en un canal pharyngien traversant le blastème d'une extrémité à l'autre, et en une poche prépharyngienne unistratifiée appliquée le long de la paroi tégumentaire. Les blastomères qui bordent la cavité interne du blastème pharyngien s'aplatissent sur place pour constituer un épithélium de revêtement unistratifié et totalement indépendant de l'épithélium tégumentaire qui ne joue donc chez les Calyptorhynques aucun rôle dans la formation du pharynx, à la différence de ce qui se passe chez certains Typhloplanoïdes (Bresslau, 1904, p. 247, pl. XVI, fig. 32 et 33).

Autour du canal pharyngien, les cellules embryonnaires indifférenciées s'ordonnent régulièrement en plusieurs assises concentriques superposées.

A la périphérie du blastème, les cellules les plus externes élaborent une tunique fibreuse et musculaire délimitant le territoire de l'ébauche pharyngienne. Quelques blastomères restent à l'extérieur de l'ébauche ; les uns situés dans la région ventrale et moyenne constitueront la musculature motrice du pharynx, les autres localisés plus dorsalement donneront naissance à l'intestin et aux glandes oesophagiennes. Dans l'ébauche de la trompe proprement dite les blastomères se disposent d'une part, autour du canal pharyngien précédemment formé et d'autre part, le long de la paroi externe de l'organe en voie d'édification. Presque tous ces blastomères se transforment en myoblastes participant à la formation de la musculature pharyngienne. Les quelques cellules dispersées dans l'épaisseur de la paroi pharyngienne donneront naissance soit à des fibres musculaires radiaires, soit à des cellules glandulaires intrapharyngiennes.

Au niveau de la poche prépharyngienne, les myoblastes du tégument ventral élaborent un ensemble de fibrilles musculaires soit rayonnantes, soit circulaires. Un important sphincter buccal est ainsi formé, bien avant le percement de la bouche qui précède de peu l'éclosion.

A l'opposé de son ouverture dans la poche prépharyngienne, le canal pharyngien vient s'ouvrir sur la membrane qui entoure le blastème et forme la cavité oesophagienne bordée vers l'intérieur du corps par les initiales encore indifférenciées de l'intestin, et celle des glandes oesophagiennes dont le cytoplasme commence déjà à se charger de produits de sécrétion. Les cellules intestinales amorcent leur développement à la fin de la période embryonnaire et l'intestin se présente, à l'éclosion, sous la forme d'une cavité trop restreinte la plupart du temps pour autoriser une alimentation immédiate.

5 - Appareil génital.

Chez les Calyptorhynques comme chez la plupart des autres Turbellariés Ectolécithophores, un quatrième blastème apparaît en arrière de l'ébauche pharyngienne. Par sa situation, ce blastème génital semble donc tout à fait comparable à celui des Typhloplanoïdes et des Dalyellioïdes mais sa mise en place ne provient pas, contrairement aux autres Turbellariés, de la vague migratoire précédant la formation des principaux blastèmes embryonnaires, mais d'une crise migratoire plus tardive et limitée aux seules initiales de l'appareil génital.

Les cellules encore indifférenciées, située en avant et sur les bords de cette ébauche, forment le matériel des glandes génitales et des vitellogène tandis que le reste du blastème donne naissance à tout l'ensemble des annexes : atrium génital commun, organe copulateur, vésicules séminales, bourse copulatrice et utérus. La différenciation des glandes génitales précède la formation des annexes et, chez *Polycystis nägelii* tout au moins, les testicules se développent plus vite que les germigènes. L'apparition et la différenciation des germigènes et des vitellogènes sont simultanées, mais les deux catégories de cellules vitellines n'acquièrent leurs caractères histochimiques qu'après la mise en place définitive de tous les organes.

D. - ANATOMIE DE L'ANIMAL A L'ECLOSION.

Lors de l'éclosion, les jeunes Calyptorhynques ont déjà une organisation très proche de celle de l'adulte.

1 - Etude comparative de quelques espèces.

Les animaux fraîchement éclos d'Acrorhynchides robustus et de Polycystis nägelii, possèdent déjà : 1) un tégument presque semblable à celui de l'adulte mais qui n'a pas totalement achevé sa différenciation dans les régions dorsale et caudale, 2) un système nerveux complet qui n'évoluera pratiquement plus, 3) une trompe parfaitement constituée et fonctionnelle et 4) un appareil digestif dont le pharynx est presqu'achevé et communique avec l'extérieur, mais dont l'intestin n'est pas encore développé. Par ailleurs, les organes génitaux ne sont représentés que par quelques blastomères indifférenciés qui se regroupent en une petite ébauche à l'arrière du pharynx.

Chez Gyratrix hermaphroditus qui appartient aussi à la famille des Polycystidae, la vésicule prostatique et le stylet copulateur se forment progressivement au cours de la période embryonnaire et l'animal éclôt avec ces deux organes parfaitement constitués. En revanche, les glandes reproductrices et les autres annexes du tractus génital sont à peine ébauchées. Il est intéressant de remarquer que les proies capturées par le Gyratrix sont paralysées par une injection de la sécrétion venimeuse de la glande prostatique avant d'être avalées.

Chez Prognathorhynchus typhlus (Eucalyptorhynques), Proschizorhynchus anophthalmus et Baltoplana magna (Schizorhynques), la structure anatomique des animaux récemment éclos diffère fort peu de celle des adultes. En effet, la trompe a son aspect définitif et, chez P. typhlus et B. magna, elle porte déjà des crochets cuticulaires strictement analogues excepté leurs dimensions, à ceux des adultes. L'intestin déjà bien formé est fonctionnel aussitôt après la sortie de la capsule. Enfin, les cellules initales des glandes reproductrices et des vitellogènes présentent presque toutes leurs caractéristiques cytologiques, bien que certains de ces organes (testicules et vitellogènes) n'aient pas encore acquis leur complet développement. Au moment de l'éclosion, les annexes génitales de B. magna commencent à peine à se différencier, mais chez P. anophthalmus, l'atrium génital commun est en formation.

2 - Remarques.

Il convient de souligner que la durée du développement embryonnaire de Prognathorhynchus typhlus, Proschizorhynchus anophthalmus et Baltoplana magna dure six à huit semaines à la température de 16 à 18° C. Dans les mêmes

conditions, l'éclosion a lieu au bout de deux semaines et demi chez Polycystis nägelii, trois semaines chez Acrorhynchides robustus et quatre chez Gyratrix hermaphroditus. Comme on le verra plus loin, la prolongation de la vie embryonnaire ne s'explique pas seulement par une organogenèse plus avancée au moment de l'éclosion.

Il semble que l'organisation de l'embryon des Calyptorhynques se poursuit selon un gradient antéro-postérieur, puisque la région céphalique différencie tous ses organes avant l'extrémité caudale. Cependant, sans remettre en cause ce principe général, l'apparition précoce de la vésicule prostatique et du stylet copulateur chez Gyratrix hermaphroditus montre bien que l'ordre de formation et le degré d'achèvement des organes au moment de l'éclosion peuvent être adaptatifs dans certains cas.

II. DISCUSSION.

Comme on l'a vu dans les pages précédentes, le développement embryonnaire de Polycystis nägelii s'oppose par plusieurs caractères à celui des autres Calyptorhynques.

Il est bien évident que certaines particularités de l'embryologie de cette espèce sont adaptatives et dues au fait que la ponte renferme de nombreux embryons alors qu'elle en compte seulement un ou deux chez la grande majorité des Calyptorhynques. La formation d'un embryon linéaire et le découpage du vitellus préalable à la formation de la membrane embryonnaire en fournissent des exemples précis. On peut donc se demander, quel est le plus primitif de ces deux modes de segmentation.

D'une part, il faut retenir que les premières phases de la division de l'oeuf de la plupart des espèces présentent toutes les caractéristiques du développement spiral qui est considéré comme le mode ancestral de segmentation chez les Turbellariés. Dans cette hypothèse, le développement particulier de P. nägelii dériverait secondairement du type de développement des autres Calyptorhynques.

D'autre part, il convient de souligner que les quelques espèces qui possèdent une ponte à plus de deux embryons, appartiennent à la famille des Polycystidae considérée par les spécialistes comme la plus primitive du groupe. Ces espèces offrent de plus la particularité d'être de grande taille

(3 à 4 mm) et de possèder des organes constitués par un nombre de cellules bien supérieur à celui des structures homologues des autres Calyptorhynques. A titre d'exemple, le pharynx d'un Polycystis nägelii adulte est constitué par une centaine de cellules, celui d'Acrorhynchides robustus et Baltoplana magna, par une trentaine seulement ; en outre chez cette dernière espèce dont la taille est comparable à celle de P. nägelii, il est significatif de constater qu'avec un nombre réduit de cellules, le pharynx atteint néanmoins la même complexité que celui de P. nägelii.

De même au cours du développement embryonnaire la multiplication cellulaire est d'emblée plus active et plus rapide chez P. nägelii, de sorte que le nombre des blastomères par embryon est bien supérieur à celui des autres espèces. En conséquence, des espèces comme Acrorhynchides robustus dont la ponte a un développement d'une durée presque identique à celle de P. nägelii, possèdent à l'éclosion une anatomie extrêmement simplifiée par rapport à cette dernière espèce, en raison du nombre limité de leurs cellules. En revanche, les Gnathorhynchidae et les Schizorhynques retrouvent une certaine complexité anatomique mais au prix d'un allongement parfois considérable du développement embryonnaire qui permet à un petit nombre de blastomères d'assumer successivement plusieurs fonctions normalement partagées entre différentes cellules. A titre d'exemple, la trompe de P. nägelii se forme en huit jours à partir d'un massif comptant près de cinquante blastomères et celle de B. magna, en un mois à partir d'une douzaine de cellules seulement.

Enfin, les Polycystis, Macrorhynchus et Opisthocystis dont les pontes renferment de nombreux embryons, sont des espèces "phytales" (Ax) vivant parmi la végétation aquatique tandis que la plupart des autres Calyptorhynques ont une vie psammique à laquelle ils sont plus ou moins étroitement adaptés (les Cicerinidae et Gnathorhynchidae chez les Eucalyptorhynques et la totalité des Schizorhynques). Or les Typhloplanoïdes Trigonostomidae dont on rapproche habituellement les Calyptorhynques sont également des espèces phytales.

Il existe donc sur les plans anatomique, embryologique et éco-éthologique, un faisceau d'arguments qui permettent de penser que les Polycystidae à pontes pluri-embryonnées sont les Calyptorhynques les plus primitifs, fait qui sera confirmé ultérieurement par la comparaison de leur développement avec celui des Typhloplanoïdes.

En conséquence, la régularité apparente de la segmentation précoce de la plupart des Calyptorhynques doit être considérée comme une acquisition secondaire.

III. - LES MODALITES DU DEVELOPPEMENT CHEZ LES TURBELLARIES.

A. - SEGMENTATION.

1 - Endolécithophores à segmentation spirale typique.

A côté de plusieurs autres caractères importants (Ax, 1961 et 1963) les Endolécithophores possèdent celui d'un développement spiral typique ou quelque peu modifié. Dans la plupart des cas, l'oeuf se clive en premier lieu par deux cloisons méridiennes successives formant quatre blastomères équivalents ; ceux-ci produisent ensuite des quartettes de micromères au pôle animal.

Ce développement spiral par quartettes est strictement identique à celui des Spiralia les plus caractéristiques, et les homologies peuvent être poussées assez loin, tout au moins jusqu'à la formation du blastomère 4 D si particulier à ce type de segmentation. C'est ce que l'on observe au cours des premières étapes de l'embryologie des Polyclades (Surface, Kato).

Il en est vraisemblablement de même chez la majorité des Macrostomides (Reisinger, 1923 ; Bogomolov, 1949 et 1960 ; Papi, 1953 ; Ax et Borkott, 1968). Cependant, chez *Macrostomum "appendiculatum"*, Seilern-Aspang (1957) décrit le stade 4 comme constitué d'une paire de blastomères végétatifs et d'une paire de blastomères animaux un peu plus petits que les précédents. Selon Papi (l. c.) à qui l'on doit également une étude des premières segmentations de cette "espèce", les deux premiers cloisonnements sont bien méridiens mais les deux couples de blastomères formés pivotent l'un sur l'autre et se localisent l'un au pôle animal, l'autre au pôle végétatif ; par la suite, les clivages de ces couples sont asynchrones. A côté d'une très large majorité d'espèces à développement incontestablement spiral par quartette, le genre *Macrostomum* manifeste donc une tendance à constituer des embryons comprenant deux paires de blastomères superposés et son développement rappelle de près celui des Acoeles.

Chez les genres Catenula et Stenostomum, les deux premières divisions méridiennes successives partagent l'oeuf en quatre blastomères et les clivages ultérieurs deviennent irréguliers et très asynchrones (Sekera, 1903 ; Bogomolov, 1949 ; Borkott, 1970).

2 - Endolécithophores à segmentation spirale par duette.

La segmentation des Acoeles a été bien décrite par Gardiner (1895), Bresslau (1909), Costello (1937), Bogomolov (1960), Apelt (1969). La première division de segmentation partage l'oeuf en deux blastomères équivalents ou parfois légèrement inégaux. Un second clivage oblique divise chacun des deux blastomères initiaux en un micromère animal et un macromère végétatif. Il se forme ainsi une duette de micromères ; ces derniers apparaissent presqu'exactement au-dessus des macromères, à la suite d'un clivage subéquatorial, avant de pivoter pour venir se disposer définitivement dans un plan à peu près perpendiculaire à celui des macromères (Apelt, l.c.). Parfois aussi, le cloisonnement oblique des deux blastomères initiaux fournit un stade 4 dont les cellules sont à peu près égales et disposées en croix.

La troisième vague de divisions produit une duette de micromères par division légèrement inégale des deux blastomères animaux. La quatrième vague mitotique divise les deux blastomères végétatifs en une duette de micromères au pôle animal et une paire de macromères au pôle végétatif. Au cours de ces divisions, trois duettes de micromère sont donc formées successivement, de même qu'il apparaît trois quartettes de micromères dans le développement des Spiralia typiques.

Comme l'a montré Bresslau (1909), ce type de segmentation par duettes présente de nombreuses homologies avec le développement spiral typique des Polyclades dont il ne diffère que par la disparition du second clivage de segmentation. Il est d'ailleurs intéressant de signaler que Conklin (1938) a réussi, par l'action du froid sur le stade 2, à provoquer chez la Crépidule (Gastéropode, Prosobranche) la formation de duettes de micromères à la place de quartettes.

On admet généralement que la segmentation des Acoeles dérive secondairement de la segmentation spirale typique. Les arguments expérimentaux que Boyer (1971) a opposés à cette thèse sont encore trop incomplets pour faire considérer la division par duettes comme la plus primitive.

3 - Ectolécithophores à segmentation spirale typique.

On retrouve une segmentation spirale par quartette typique chez certains Turbellariés Ectolécithophores tels que Prorhynchus (Steinbök et Ausserhofer, 1950) où elle est laeotrope, Otomesostoma auditivum (Reisinger, 1955) et Monocelis fusca (Giesa, 1966) où elle est au contraire dexiotrope comme chez les Polyclades. De plus, Bogomolov (1949) a suivi la formation de la première quartette de micromères chez Bresslauilla relicta (Dalyellioïde) et signale chez un Phaenocora (Mesostomide) l'existence de jeunes embryons dont les blastomères ont une disposition tétraradiée.

4 - Ectolécithophores à segmentation adiaphorétique.

Les Triclades constituent le groupe de Turbellariés dont le développement embryonnaire a été le plus étudié. Chez les Paludicoles, on connaît le développement de Planaria fusca (Knapert, 1865), Pl. maculata (Bardeen, 1902 ; Curtis, 1902), Pl. torva (Mattiesen, 1904 ; Seilern-Aspang, 1958), Pl. polychroa (Metzchnikoff, 1882 ; Mattiesen, l. c.), Pl. simplicissima (Stevens, 1904), Polycelis nigra (Knapert, l. c. ; Le Moigne, 1963) et Dendrocoelum lacteum (Ijima, 1884 ; Hallez, 1887 ; Mattiesen, l. c. , Fulinski, 1916 ; Seilern-Aspang, l. c.) ; mais chez les Maricoles, en revanche, seule Procerodes ulvae (Seilern-Aspang) a fait l'objet de recherches embryologiques.

De la masse des travaux précédents, il faut retenir essentiellement le fait que dès son début, la segmentation prend un caractère anarchique, compliqué encore par la séparation des blastomères dès la fin de la télophase de chaque division, si bien que ces derniers sont isolés les uns des autres et disséminés au sein de la masse vitelline. Cette segmentation "adiaphorétique" (Hallez, 1887) ne facilite évidemment pas l'étude de l'orientation des différents plans de division, ni celle d'un éventuelle filiation cellulaire. Dans de telles conditions, il n'est pas étonnant que la majorité des travaux cités n'apportent aucune précision sur ces problèmes. Cependant, Hallez (l. c.) et Acconci (1919) observent une segmentation régulière jusqu'au stade 8 chez Dendrocoelum lacteum, et Mattiesen (1904) fournit une description très détaillée de l'ontogenèse de Planaria torva. Des travaux précédents, se dégagent les faits suivants : l'oeuf se divise par une cloison méridienne en deux blastomères égaux qui se segmentent à nouveau et de façon égale ; ces quatre blastomères initiaux demeurent groupés ou se dissocient plus ou moins les uns des autres ; les clivages ulté-

rieurs deviennent progressivement moins réguliers et asynchrones.

En définitive, il faut considérer le développement "adiaphorétique" des Triclades comme une complication particulière du développement spiral. De plus, cette façon de voir se trouve en accord avec les idées actuelles sur les relations phylogénétiques des Triclades. A la suite de Meixner, l'ensemble des spécialistes s'appuyant sur des données anatomiques précises tendent à rapprocher dans un même regroupement taxonomique, les Triclades et les Protriclades. Or le développement de ces derniers, comme on l'a vu plus haut, est typiquement spiral.

5 - Ectolécithophores à segmentation atypique (Fig. 17).

a - Plagiostomoïdes.

Comparé aux Ordres de Turbellariés qui viennent d'être passés en revue, celui des Plagiostomoïdes demeure particulièrement mal connu en ce qui concerne les modalités du développement embryonnaire puisque seul Plagiostomum girardi a été étudié à cet égard. D'après Bresslau (1904), la première segmentation de l'oeuf est très inégale. Aussitôt après, un second clivage du macromère précédemment formé produit un autre micromère au voisinage immédiat du premier. La troisième division concerne encore la macromère qui se clive en deux gros macromères égaux.

Malheureusement ni dans son texte ni dans les figures qui l'accompagnent, Bresslau ne précise les orientations respectives de ces premiers clivages. Il est vrai que les différents blastomères à peine individualisés tendent à se séparer les uns des autres comme dans la segmentation adiaphorétique des Triclades, ce qui ne facilite évidemment pas une étude précise des embryons. Quoi qu'il en soit, les fuseaux des deux premières divisions sont très voisins et orientés de façon identique tandis que le fuseau qui aboutit à l'équipartition du macromère se situe dans un plan approximativement perpendiculaire à celui des deux divisions précédentes. Etant donné l'inégalité très nette du premier clivage, il paraît hautement vraisemblable que l'orientation de cette division coïncide avec l'axe polaire de l'oeuf, les micromères en occupant le pôle animal, les macromères le pôle végétatif. Par la suite, on observe un cloisonnement synchrone des deux micromères donnant un embryons à six cellules, puis une équipartition également simultanée des deux macromères ce qui conduit au stade 8.

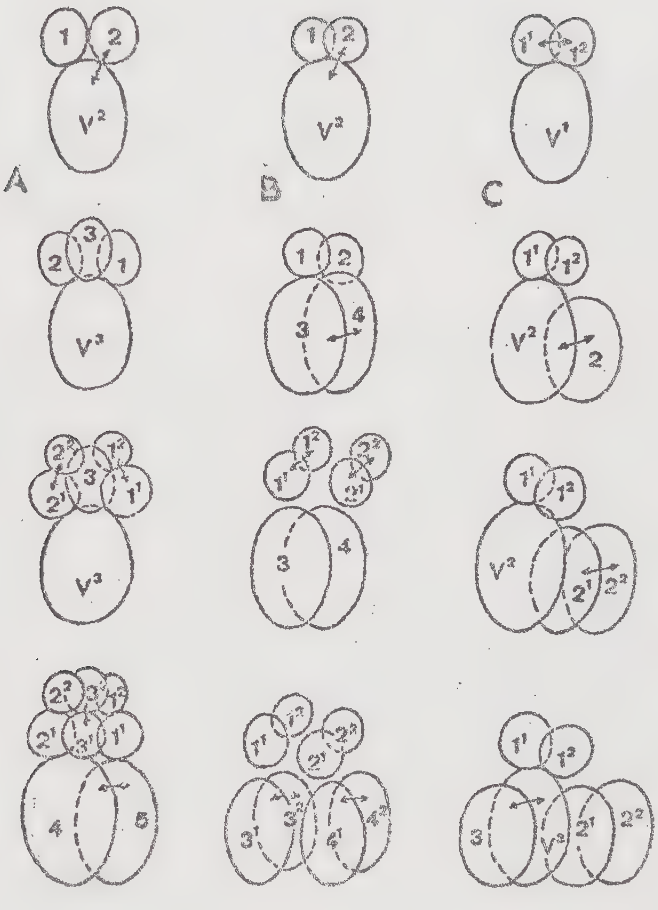


Fig. 17.- Comparaison de la segmentation de *Mesostomum ehrenbergi* (A), *Plagiostomum girardi* (B) et *Paravortex gemellipara* (C). A et B d'après Bresslau (1904), C d'après Ball (1916).

b - Dalyellioïdes.

Les connaissances sur l'embryologie de cet Ordre proviennent presqu' exclusivement de l'étude de deux espèces du genre Paravortex : P. cardii dont le développement a été suivi par Hallez (1909) et P. gemellipara qui a fait l'objet d'une description très minutieuse de Ball (1916). Il n'est pas possible de retenir ici la publication de Caullery (1903) qui ne fournit que quelques indications extrêmement vagues sur l'embryogenèse des Fecampia. Enfin, un travail plus récent de Bogomolov (1949) fournit des indications intéressantes sur la segmentation de Bresslauilla relicta.

Chez cette dernière espèce d'après Bogomolov, la segmentation typiquement spirale a pu être suivie jusqu'à la formation des quatre premiers micromères.

En revanche chez les Paravortex, la segmentation présente une allure tout à fait différente. La première division est nettement inégale et donne un micromère animal et un macromère végétatif. Le second clivage partage le micromère en deux tandis que le troisième divise le macromère par une cloison méridienne. A la mitose suivante, l'un des deux micromères se divise encore une fois et l'embryon au stade 5 se compose de trois micromères au pôle animal et de deux macromères au pôle végétatif. Par la suite, les trois micromères se clivent simultanément tandis que les macromères restent au repos. L'embryon compte alors huit blastomères dont six macromères animaux et deux macromères végétatifs.

c - Typhloplanoïdes.

Après des tentatives infructueuses, van Beneden (1860) et Hallez (1879) n'ont fourni l'un et l'autre que des documents insignifiants sur l'ontogenèse des Mesostomides, et c'est à Bresslau (1904) que l'on doit l'essentiel des connaissances actuelles sur ce sujet ; il convient cependant d'ajouter les observations plus récentes de Bogomolov (1949). Le travail de Bresslau fournit une étude précise du développement embryonnaire de quatre espèces de Mésostomides : Mesostomum ehrenbergi, M. productum, M. lingua et Bothromesostomum personatum ; celui de Bogomolov concerne une espèce de Phaenocora.

Chez les Mesostomides, à la suite de la première division de segmentation, Bresslau observe la formation d'un micromère qui s'isole au pôle animal de l'oeuf, tandis que le pôle végétatif est occupé par un volumineux

macromère. Le micromère ne participe pas aux deux clivages suivants qui intéressent uniquement le macromère qui produit successivement deux nouveaux micromères animaux à son pôle animal. Au stade 4, l'embryon compte donc trois blastomères animaux et un macromère végétatif. Deux des micromères animaux subissent par la suite un cloisonnement méridien, de sorte que l'embryon se trouve formé d'une assise de cinq blastomères animaux surplombant le macromère. Celui-ci se divise à son tour par une cloison méridienne en deux blastomères végétatifs encore nettement plus volumineux que les micromères du pôle animal.

IV. - COMPARAISON DU DEVELOPPEMENT DES CALYPTORHYNQUES AVEC CELUI DES AUTRES ECTOLECITHOPHORES (Fig. 18).

Les comparaisons précédentes permettent de rapprocher l'embryologie des Calyptorhynques de celle des Plagiostomides, des Dalyellioïdes et des Mésostomides chez lesquels la première division de segmentation donne pareillement un micromère animal et un macromère végétatif.

Le développement du Plagiostomum girardi et des espèces du genre Paravortex (Dalyellioïdes) n'offre pas d'autres points communs avec celui des Calyptorhynques, que l'orientation du premier fuseau de division et la formation d'un premier blastomère au pôle animal de l'oeuf.

Les premières étapes du développement des Mésostomides rappellent bien les modalités observées chez les Calyptorhynques, à la fois par l'orientation du premier fuseau de segmentation, la mise en place d'un micromère animal et d'un macromère végétatif, et enfin par les divisions répétées du macromère au cours des premières phases de la segmentation.

Une comparaison plus approfondie révèle cependant un certain nombre de différences dans l'embryologie précoce de ces deux groupes ; la plus évidente réside dans la localisation du micromère issu de la troisième division il est animal chez les Mésostomides et végétatif chez la plupart des Calyptorhynques. Mais si l'on examine le développement embryonnaire de Polycystis nägelii qui est vraisemblablement plus primitif que celui des autres Calyptorhynques comme on l'a vu plus haut, on constate que :

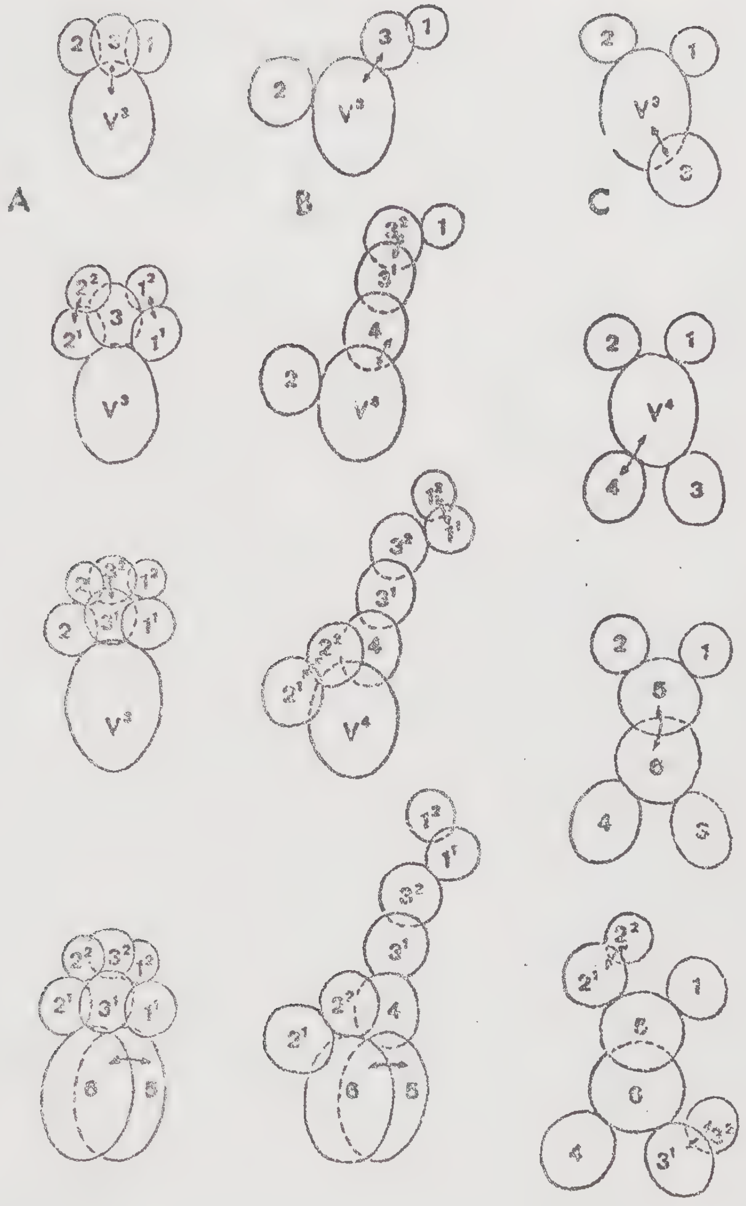


Fig. 18.- Comparaison de la segmentation de Mesostomum ehrenbergi (A) d'après Bresslau (1904), Polycystis nägelii (B) et Baltoplana magna (C).

1) le blastomère 3 est animal chez P. nägelii comme chez les Mesostomides ;

2) les clivages suivants intéressent les blastomères 1, 2 et 3 ; chez P. nägelii, le blastomère 3 se divise avant les deux autres, mais c'est l'inverse chez Mesostomum ehrenbergi (Bresslau, 1904) ;

3) enfin, chez P. nägelii comme chez les Mesostomides, la cloison qui aboutit à l'équipartition du macromère végétatif se forme dans un plan méridien, alors que ce plan est presqu'équatorial chez les autres Calyptorhynques

En revanche, chez les Mesostomides, l'isolement des embryons se réalise par une membrane formée par les cellules vitellines périphériques. Ce processus très particulier aux Mesostomides et inconnu dans les autres Ordres, constitue sans doute une adaptation à la multiplication du nombre des embryons dans chaque ponte.

En définitive, la série de concordances relevées entre le développement embryonnaire des Mesostomides et celui de P. nägelii est beaucoup trop précise pour résulter d'une convergence et traduit de toute évidence une parenté entre les Mesostomides et les Calyptorhynques. Ainsi des arguments embryologiques importants viennent étayer la thèse de l'origine "trigonostomienne" des Calyptorhynques (Graff, 1882 ; Ax, 1961 et 1963).

Malheureusement, l'étude embryologique des Trigonostomidae n'a pas encore été entreprise ; il est certain que sa connaissance apporterait des arguments de toute premières importance pour confirmer - ou infirmer - les conclusions précédentes. Comme j'ai pu le constater, les cocons de Trigonostomum venenosum et d'Astrotorhynchus bifidus renferment 5 à 8 embryons et les jeunes à l'éclosion sont déjà pourvus d'une trompe bien différenciée.

V. - HYPOTHESES SUR L'ORIGINE ET L'EVOLUTION DES CALYPTORHYNQUES.

L'ensemble des documents dont on dispose actuellement semble bien indiquer que les Calyptorhynques descendent de formes ancestrales caractérisées par 1) une anatomie relativement complexe, 2) des pontes à nombreux embryons et à développement rapide, 3) un développement embryonnaire ectolécithique à segmentation atypique et enfin 4) un habitat vraisemblablement marin et végétal.

Comme on l'a signalé, tous ces carctères se retrouvent point par point chez les Typhloplanoďes et plus spécialement les Trigonostomidae qui, comme les Calyptorhynques possèdent une trompe à l'avant du corps. L'hypothèse d'une origine commune des Calyptorhynques et de certains Typhloplanoïdes émise depuis longtemps déjà et admise très généralement, se trouve confirmée par les convergences de leur développement embryonnaire.

Etant donné que les Trigonostomidae peuplent essentiellement les eaux marines ou éventuellement saumâtres, il est vraisemblable que les Calyptorhynques se sont différenciés à l'origine en milieu marin. L'existence dans ce milieu de plusieurs genres de Calyptorhynques à cocons renfermant de nombreux embryons et leur rareté en milieu dulçaquicole, renforce cette hypothèse.

A partir de cette souche représentée actuellement par les genres Macrorhynchus, Polycystis et Opisthocystis, les Calyptorhynques se sont adaptés très tôt à la vie mésopsammique et les représentants de la famille des Polycystidae montrent différents degrés de spécialisation dont les Cicerinidae, les Gnathorhynchidae et les Schizorhynques constituent les types les plus achevés.

Comme chez tous les autres Métazoaires, l'adaptation au milieu mésopsammique (cf. Swedmark, Delamarre-Deboutteville) a entraîné:

1) une réduction notable de la taille corporelle accompagnée d'une diminution importante du nombre des cellules constituant l'organisme; chez certaines espèces mésopsammiques de grande taille comme quelques Karkinorhynchidae et Diascorhynchidae, l'accroissement du volume des organes est dû uniquement à une augmentation des volumes cellulaires;

2) cette réduction du nombre des cellules entraîne la simplification ou même la disparition de certains organes et limite le nombre des cellules reproductrices; ainsi, les germigènes ne produisent plus chacun qu'un ovocyte à la fois et la capsule ne contient que deux ovules, ou même un seul lorsque l'un des germigènes a disparu;

3) en revanche, un allongement considérable du développement embryonnaire; les jeunes individus à l'éclosion ont une anatomie bien plus proche de celle de l'adulte que ceux des formes phytales dont l'embryon compte cependant beaucoup plus de cellules mais dont le développement est bien plus rapide;

4) la disparition d'organes inutiles comme les taches oculaires, compen-

sée par l'acquisition d'organes sensoriels nouveaux (soies tactiles par exemple) et de dispositifs de fixation (glandes ou ceintures adhésives);

5) enfin, l'acquisition de caractères biologiques particuliers: la protection de la ponte est assurée soit par une sécrétion utérine emballant la totalité de la capsule ovigère chez Marirhynchus longasaeta, Cystiplana karlingi, Nigerrhynchus opisthoporus et Psammorhynchus tubulipenis, soit par l'épaississement et la structure alvéolaire de la coque chez Baltoplana et les Diascorhynchidae.

Il est curieux de constater que certaines espèces comme Acrorhynchides robustus, sont revenues secondairement à un habitat algal analogue à celui des espèces primitives mais elles en diffèrent par leur taille réduite, leur anatomie simplifiée et leur capsule à deux embryons. Il est d'ailleurs significatif de remarquer qu'en milieu marin Gyratrix hermaphroditus est essentiellement mésopsammique, alors qu'en milieu dulçaquicole on le rencontre parmi la végétation aquatique.

CONCLUSION.

Il serait très souhaitable que de nouvelles investigations viennent compléter et élargir les résultats exposés dans les pages qui précèdent. Dans bien des domaines, j'ai souligné l'indigence des données bibliographiques qui ne permettent pas de se faire une idée d'ensemble sur la biologie de la reproduction des Turbellariés Ectolécithophores. Et cela est vrai non seulement pour les Calyptorhynques où les phénomènes présentent vraisemblablement peu de variété en raison de leur spécialisation quasi-exclusive - du moins dans l'état actuel des connaissances - à un mode de vie mésopsammique, mais encore plus pour les Dalyellioïdes, les Typhloplanoïdes et les Plagiostomoïdes dont les espèces bien plus nombreuses sont aussi plus diversifiées au point de vue écologique et éthologique.

L'extension des recherches sur la biologie et l'embryologie des Turbellariés constitue donc une des conditions indispensables à l'amélioration des connaissances sur les relations entre les différents Ordres. Il est d'ailleurs probable qu'un tel travail éclairerait de façon inattendue le problème de l'origine des Cestodes et des Trématodes l. s., car les spéculations sur la phylogénie de ces groupes reposent sur des bases extrêmement fragiles que des observations un peu plus approfondies risquent de remettre en question.

Des résultats exposés au cours du présent travail, qui se regroupent naturellement autour de trois aspects fondamentaux de la biologie des Calyptorhynques : 1) cytologie de la reproduction, 2) histologie de l'élaboration et du durcissement de la coque ovigère, et enfin 3) embryologie, se dégagent un certain nombre de considérations générales qui méritent d'être discutées.

Chez les Plathelminthes, il ne semble pas qu'il existe des spermatozoïdes du type primitif (cf. Franzen, 1956 a et b), si ce n'est chez <u>Xenoturbella bocki</u> (Westblad, 1949 ; Franzen, 1956 a) dont la position systématique est précisément contestée par de nombreux auteurs comme Remane (1958), Reisinger (1960) et Ax (1961 et 1963).

Parmi les Métazoaires, les Plathelminthes se singularisent en effet par des spermatozoïdes le plus souvent biflagellés comme ceux de beaucoup

d'organismes unicellulaires et de végétaux inférieurs. Ces gamètes dérivent de spermatides elles-mêmes biflagellées dont la présence a été reconnue chez tous les groupes de Turbellariés, à l'exception des Plagiostomides.

Parfois comme chez les Macrostomides, les Dayellioïdes et les Mesostomides, il existe des espèces à spermatides biflagellées produisant des spermatozoïdes également flagellés, et d'autres dont les spermatides et les spermatozoïdes qui en proviennent sont toujours dépourvus de flagelles (Hendelberg, 1969). Il est hors de doute que l'existence de spermatides biflagellées constitue un caractère fondamental et primitif des Plathelminthes dans leur ensemble. Ainsi, l'absence de flagelles dans les spermatides de quelques Turbellariés ou la présence d'un flagelle unique dans celles de certains Cestodes (Rosario, 1964) doivent être interprétées comme le résultat d'une réduction secondaire.

De même, l'incorporation des flagelles de la spermatide à la paroi du spermatozoïde au cours de la spermiogenèse, résulte également d'une évolution des spermatozoïdes typiquement biflagellés. C'est ce qui produit chez de nombreux Endolécithophores (Acoeles et Polyclades), certains Trématodes et Cestodes. Parmi les Ectolécithophores, les Calyptorhynques sont les seuls à présenter une telle particularité et il est bien évident qu'ils doivent être rapprochés des Dalyellioïdes et des Typhloplanoïdes dont certaines familles ont des spermatozoïdes biflagellés, plutôt que des Plagiostomoïdes dont les spermatozoïdes sont régulièrement dépourvus de flagelles.

Il apparaît enfin que l'existence d'une spermiogenèse aussi particulière que celle des Plathelminthes va de pair avec l'apparition chez ces derniers d'une fécondation interne (Franzen, 1967, p. 341 ; Jägersten, 1959, p. 92-96 ; Ax, 1961 et 1963).

L'oeuf des Plathelminthes est typiquement holoblastique. Les réserves accumulées au cours de la phase d'accroissement se répartissent d'une façon homogène au sein du cytoplasme de l'ovocyte qui est donc oligolécithe. En fin d'accroissement, l'ovocyte a cependant une taille apréciable puisque son diamètre est compris entre 50 et 100 µ ; il atteint même 300 µ chez les Polyclades. A cet égard, il n'y a aucune différence entre les Turbellariés Ectolécithophores et Endolécithophores, l'accroissement de l'ovocyte n'étant pas moindre chez les premiers que chez les seconds. On est fort mal

renseigné sur les produits accumulés dans le cytoplasme des ovocytes. Chez les Calyptorhynques, ces réserves sont presqu'exclusivement protéiques.

La maturation de l'ovocyte, généralement bloquée en début de prophase de la division réductionnelle, ne s'achève qu'après la pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme ovulaire. Cette maturation est tout à fait normale dans la plupart des cas, et notamment chez les Polyclades où elle a été bien étudiée (Francotte,1897 et 1898 ; Klinckowstroem, 1897), les Mésostomides (Husted et Ruebush, les Dalyellioïdes du genre Paravortex (Hallez, 1909 ; Ball, 1916), le Calyptorhynque Polycystis nägelii, ainsi que chez de nombreux Trématodes et Cestodes. Elle est également probable chez les Acoeles, les Macrostomides et les Calyptorhynques Acrorhynchides robustus et Baltoplana magna où l'on observe régulièrement l'émission de deux globules polaires.

Dans ce domaine cependant, il convient d'être extrêmement prudent et de ne pas généraliser les rares cas connus dont certains présentent des particularités étonnantes. Quelques espèces de Turbellariés en effet, manifestent des modalités variées de parthénogenèse, avec des anomalies de la maturation des ovocytes, comme par exemple Otomesostoma auditivum (Reisinger, 1940) et un certain nombre de Triclades Paludicoles étudiés par Bennazzi et ses élèves (cf. Bennazzi, 1963).

L'émission naturelle de globules polaires géants constitue également une originalité propre à certains Turbellariés. De tels globules ont été décrits par Francotte (1897) chez Prostheceraeus vittatus (Polyclade) et plus récemment par Borkott (1970) chez Stenostomum sthenum (Catenulide), mais le déterminisme de leur formation demeure encore énigmatique.

Chez tous les Turbellariés sans exception, la ponte est enfermée à l'intérieur d'une capsule ovigère qui, chez les Endolécithophores, est élaborée au moment de la ponte à partir de certaines réserves provenant du cytoplasme ovulaire. Lorsque l'ovule est pondu, ces substances jusque-là dispersées sous la forme de granules dans tout le cytoplasme de l'oeuf, se rassemblent à sa périphérie en dehors de la membrane cytoplasmique. Ces granules confluent en formant la capsule ovigère ainsi que Meixner (1924) a pu l'observer chez un Microstomum. Chez les Polyclades, le durcissement de la capsule ovigère résulte d'un tannage quinonique (Viali, Valcurone).

Il en est vraisemblablement de même chez les Macrostomides dont la capsule brunit à ce moment là. Il est intéressant aussi de signaler que chez Microstomum lineare (Meixner, l. c.), certaines ovocytes abortifs participent en même temps que l'oeuf à l'élaboration de la capsule ovigère et jouent par conséquent un rôle comparable à celui des vitellocytes des Ectolécithophores.

Chez les Ectolécithophores, les substances utilisées lors de la formation de la capsule sont synthétisées et stockées par les cellules vitellines. A la ponte, les "globules vitellins" qui s'échappent du cytoplasme des cellules vitellines viennent se disposer à leur périphérie où ils forment une membrane mince qui durcit par la suite. Le durcissement de la capsule ovigère résulte d'un tannage quinonique aussi bien chez les Triclades (Nurse, 1950) que chez les Dalyellioïdes (Arvy, 1957) et les Calyptorhynques. Il apparaît très probable que le durcissement de la coque ovigère de la plupart des Ectolécithophores, provient aussi d'un tannage quinonique et le brunissement de la paroi du cocon dans les heures qui suivent sa formation en est un bon indice. Malheureusement, les données que l'on possède sont encore insuffisantes pour envisager la comparaison des différentes modalités de l'élaboration de la coque ovigère chez les Ectolécithophores. Une telle étude serait d'autant plus intéressante que les Digènes et les Cestodes ont permis de constater que ces processus peuvent varier d'un groupe à l'autre (Smyth et Johri).

L'étude comparative de la segmentation des Turbellariés Ectolécithophores révèle l'existence de deux modalités distinctes de développement embryonnaire :

1) la segmentation spirale typique avec formation de quartettes successives de micromères, reconnue chez les Périlécithophores, les Protriclades et le Dalyellioïde Bresslauilla relicta ; il est très vraisemblable que le développement adiaphorétique des Triclades n'en constitue qu'une variante ;

2) la segmentation atypique qui se rencontre chez les Plagiostomides, les Calyptorhynques, les Typhloplanoïdes et la majorité des Dalyellioïdes.

Il paraît vraisemblable que les perturbations qui affectent les premières phases du développement embryonnaire des Ectolécithophores à segmen-

tation atypique résultent d'une modification très stricte de l'orientation et de la position du fuseau de division. Toutefois, il semble que le fuseau se constitue indépendamment du point de pénétration, d'ailleurs quelconque, du spermatozoïde dans l'ovocyte. D'un autre côté, celui-ci ne présente aucune anisotropie ni ségrégation de certains de ses éléments qui puisse expliquer une telle orientation. Même, chez Paravortex gemellipara et Macrostomum appendiculatum où l'on a pu constater une certaines hétérogénéité dans la répartition des mitochondries et de diverses substances, ni les unes ni les autres ne semblent perturber le déroulement normal des premiers clivages embryonnaires.

Etant donné que le caractère éminemment singulier de la première division de segmentation se retrouve identique chez les Dalyellioïdes, les Typhloplanoïdes, les Calyptorhynques et les Plagiostomoïdes, on pourrait considérer que ces Ordres constituent un ensemble naturel ayant une origine commune ce qui justifierait leur regroupement proposé par de Beauchamp (1961). Cependant et aussi invraisemblable que cela puisse paraître, il est possible que l'apparition du clivage atypique se soit réalisé indépendamment dans plusieurs lignées distinctes puisque Bogomolov (1949) signale l'existence d'une segmentation spirale typique chez le Dalyellioïde Bressauilla et peut-être aussi chez le Typhloplanoïde Phaenocora.

Chez les Turbellariés dont l'oeuf présente une segmentation spirale, l'embryon se creuse à partir du stade 8 ou 12 blastomères, d'une cavité réduite ou même quelquefois virtuelle, aboutissant à la formation d'une coeloblastula. Chez les Ectolécithophores dont la segmentation est atypique, la morula se dissocie par un processus que certains auteurs ont comparé à un phénomène d'épibolie.

Très rapidement chez les Triclades et plus tardivement chez les autres Ordres, les blastomères constituant l'embryon s'éparpillent dans le vitellus environnant. Comme l'ont déjà souligné certains auteurs tels que Hallez, Dawydoff et de Beauchamp, il devient totalement illusoire d'essayer de suivre les filiations cellulaires ainsi que la formation des feuillets embryonnaires.

La formation d'une membrane embryonnaire (cf. Bresslau, 1904) au début de la dissociation de la morula, rappelle chez les Calyptorhynques et les Plagiostomides, les formations homologues mais plus précoces des Trématodes et des Cestodes ainsi que l'ectoderme provisoire des Triclades. Etant donné

sa présence dans divers groupes de Plathelminthes, ce mode d'embryogenèse en représente vraisemblablement le type primitif.

Chez certains autres Ectolécithophores et notamment les Typhloplanoïdes, une membrane vitelline s'organise autour de chaque embryon et joue un rôle analogue à la membrane embryonnaire. Dans ce cas, l'absorption des cellules vitellines par l'embryon se réalise grâce à quelques gros blastomères de la région végétative, qui phagocytent le vitellus environnant. Ces vitellophages existent chez certains Typhloplanoïdes, les Dalyellioïdes et les Protriclades ; la pharynx embryonnaire provisoire des Triclades en est très certainement l'homologue.

Par leur segmentation atypique, leur anatomie relativement complexe et leur adaptation au milieu mésopsammique, les Calyptorhynques représentent sans aucun doute un Ordre de Turbellariés "évolué" et spécialisé.

Par certaines de leurs structures anatomiques et quelques unes des modalités de leur développement embryonnaire, c'est incontestablement avec les Typhloplanoïdes que les Calyptorhynques présentent les relations les plus étroites. A cet égard, il serait très intéressant d'étudier le développement des Trigonostomidae que l'on considère comme la famille la plus proche des Calyptorhynques.

Comme le laissent supposer les observations de Bogomolov, il est très probable que les modalités du développement embryonnaire des Ectolécithophores sont plus variés que ne permettent de l'imaginer les quelques exemples actuellement connus. Il serait donc extrêmement intéressant d'étendre les investigations embryologiques à beaucoup d'autres espèces afin d'essayer de comprendre les relations des divers Ordres de Turbellariés.

RESUME.

1) Les Calyptorhynques constituent un Ordre de Turbellariés Ectolécithophores dont presque toutes les espèces marines mésopsammiques n'ont été découvertes que récemment à la suite des recherches de Meixner et de Karling. Grâce à un long séjour à la Station Biologie de Roscoff (Nord Finistère, France) il a été possible de suivre pendant plusieurs années consécutives la reproduction sexuée et le développement embryonnaire d'un certain nombre de Calyptorhynques.

2) La spermatogenèse se déroule dans les cystes testiculaires provenant de la multiplication des cellules germinales primordiales. Chez les espèces étudiées, les divisions de maturation sont tout à fait régulières sauf chez _Gyratrix hermaphroditus_ où l'on remarque parfois l'absence d'appariement et la disparition ultérieure d'une des trois paires chromosomiques. Les spermatides d'un même cyste demeurent longtemps reliées par des trabécules cytoplasmiques ; comme chez la plupart des Plathelminthes, elles sont munies de deux flagelles qui sont progressivement incorporés à la paroi du spermatozoïde en formation. Les spermatozoïdes achevés sont filiformes et occupés en majeure partie par le noyau ; la pièce intermédiaire n'apparaît pas distinctement séparée de la queue.

L'étude caryologique entreprise à cette occasion a permis de préciser le caryotype de _Polycystis nägelii_ où 2n = 12, n = 6 chromosomes, de _Gyratrix hermaphroditus_ où 2n = 6, n = 3 et de _Baltoplana magna_ où 2n = 10, n = 5. Contrairement à l'assertion de Reuter, les _Gyratrix hermaphroditus_ à 2n = 6 chromosomes présentent une spermiogenèse normale donnant naissance à des spermatozoïdes bien constitués et mobiles.

3) Les germigènes allongés ou piriformes ne comptent que quelques cellules germinales primordiales à leur pôle le plus étroit ; leur fonctionnement est cyclique et produit de temps en temps une seule ovogonie qui s'accroît progressivement en repoussant les ovocytes primaires les plus développés à l'opposé du pôle germinatif. Cependant chez _Polycystis nägelii_, _P. goettei_ et certains _Macrorhynchus_, les germigènes sont globuleux et la zone germinative forme simultanément plusieurs ovogonies qui se disposent en couches concentriques au fur et à mesure de leur apparition.

Durant leur séjour dans les germigènes, les gonies subissent un accroissement assez considérable tout à fait analogue à la vitellogenèse des ovocytes des autres Métazoaires, accumulant des réserves protéiques dispersées de façon homogène dans tout leur cytoplasme. En fin d'accroissement, on voit apparaître dans le noyau, les filaments chromosomiques qui, en général, restent non appariés. Le noyau légèrement décalé vers le pôle animal de cet ovocyte oligolécithe, se trouve bloqué au leptotène ou au début du zygotène de la première division méiotique. Les divisions de maturation se poursuivent dans la capsule ovigère après la fécondation.

4) L'accouplement précédé par une poursuite des deux partenaires est une véritable copulation croisée avec injection réciproque du sperme dans la bourse copulatrice du conjoint. La fécondation a lieu soit dans le germigène (cas de Gyratrix hermaphroditus étudié par Meixner), soit au moment de la ponte lorsque l'ovocyte traverse l'atrium génital commun pour gagner l'utérus.

5) Les cellules vitellines indifférenciées se multiplient par mitoses successives à la périphérie ou aux extrémités des glandes vitellines ; les vitellocytes qui en occupent le centre ont subi un accroissement cytoplasmique important dû à l'accumulation des réserves trophiques (glycogène et protéines) qui seront utilisées lors du développement embryonnaire, et des "globules vitellins" contenant toutes les substances nécessaires à la formation et au durcissement de la coque ovigère.

6) La capsule ovigère se constitue dans l'utérus où pénétrent un, deux ou rarement plusieurs ovules fécondés et de nombreuses cellules vitellines qui s'accumulent tant que cet organe n'est pas rempli. Des contractions répétées de la musculature utérine assurent un brassage intense et le tassement des cellules vitellines.

Pendant ce temps, les globules vitellins jusqu'alors dispersés dans le cytoplasme des vitellocytes sont expulsés dans les espaces intercellulaires, puis gagnent la périphérie de la ponte où ils se rassemblent et s'étalent en une lame de plus en plus épaisse, le long de l'épithélium

interne de l'utérus. Au cours de cette phase de brassage, les produits contenus dans les globules vitellins (un orthodiphénol, une polyphénoloxydase et des protéines à radicaux sulfhydrilés) sont intimement mélangés pour former la paroi de la capsule ovigère qui est molle tant que se poursuivent les contractions utérines. Lorsque celles-ci s'espacent et cessent, la paroi de la capsule durcit par suite du tannage quinonique des protéines qui en constituent quantitativement une fraction importante.

La capsule achevée a une forme plus ou moins régulièrement sphérique ; elle est très généralement pédonculée, de couleur variant du noir au jaune verdâtre. Dans certains genres, il existe un dispositif d'ouverture composé d'un clapet ou d'un réseau polygonal de lignes de déhiscence. La paroi a une épaisseur constante sauf au niveau du dispositif d'ouverture où elle s'amincit localement.

Parfois, le pédoncule de la capsule se forme en même temps que la paroi et à partir du même matériel qui se répand jusque dans la lumière du canal utérin. La sécrétion des glandes utérines assure seulement la fixation de la capsule sur le substrat.

Chez Gyratrix hermaphroditus, la paroi de la coque ovigère se forme comme précédemment mais le pédoncule se constitue à partir d'une volumineuse goutte de sécrétion des glandes utérines. Dans les genres Marirhynchus, Cystiplana et Nigerrhynchus, le produit de sécrétion de ces mêmes glandes enrobe la capsule qui est dépourvue de pédoncule et en assure ainsi la fixation (Hoxhold).

7) La segmentation des oeufs est toujours totale et très inégale, au moins durant les premiers stades. Il est important de remarquer que l'axe du fuseau de la première division coïncide avec l'axe polaire de l'oeuf ou est à peine incliné par rapport à celui-ci. De plus, les divisions ultérieures n'intéressent qu'une seule cellule de l'embryon produisant l'un après l'autre plusieurs blastomères qui ne se segmentent pas durant plusieurs cycles mitotiques successifs. Le stade 2 est constitué par un petit blastomère 1 (micromère) au pôle animal et un macromère végétatif dont le noyau amorce une nouvelle division presque immédiatement après s'être reconstitué. L'axe du fuseau du second clivage est à peu près perpendiculaire à l'axe polaire et le blastomère 2 s'isole sur le flanc du macromère végétatif par une cloison longitudinale tangentielle.

Chez <u>Acrorhynchides robustus</u> et <u>Baltoplana magna</u>, les fuseaux des divisions ultérieures prennent alternativement une orientation identique à celle de chacun des axe précédents, produisant ainsi deux blastomères de part et d'autre du pôle végétatif. Puis le macromère se clive transversalement, une fois chez <u>Baltoplana</u>, deux fois chez <u>Acrorhynchides</u> L'embryon se trouve donc constitué par une seule assise cellulaire qui s'élargit et s'épaissit progressivement lors des divisions suivantes.

Chez <u>Polycystis nägelii</u>, après l'individualisation du blastomère 2, l'axe des fuseaux de segmentation reste constant pendant plusieurs clivages successifs, si bien que les jeunes embryons s'étirent en un cordon unicellulaire qui s'épaissit ensuite pour donner comme dans le cas précédent, une morula de forme irrégulière.

8) Il n'existe pas chez les Turbellariés Ectolécithophores, de blastula comparable à celle des autres Métazoaires. L'épiderme définitif des Calyptorhynques résulte d'une migration précoce de certains blastomères qui s'insinuent entre les cellules vitellines et s'organisent en une membrane embryonnaire apparemment homologue de celle des Cestodes et de l'épiderme provisoire des Triclades. Le contenu des capsules ovigères se trouve ainsi découpé en autant de territoires embryonnaires contigüs, limités chacun par une membrane périphérique entourant une assise externe de vitellocytes et le massif interne des blastomères. Bientôt ce massif se disloque et ses blastomères migrent au travers du vitellus pour se rassembler sous la membrane embryonnaire. Deux des blastèmes ainsi formés se développent côte à côte en constituant l'ébauche des ganglions cérébroïdes ; un troisième, plus petit et postérieur par rapport aux précédents, produira le pharynx. L'apparition du blastème génital situé un peu en arrière de l'ébauche pharyngienne est très tardive chez les Calyptorhynques où elle précède de peu l'éclosion.

9) Durant la suite du développement, la membrane embryonnaire se différencie en épithélium épidermique. La musculature tégumentaire se forme, soit sur place à partir des cellules superficielles des ébauches nerveuses et pharyngienne, soit après migration de blastomères indifférenciés provenant des ébauches précédentes.

Dans chacun des blastèmes antérieurs apparaît un faisceau de fibres nerveuses constituant un ganglion indépendant. L'élongation de ces fibres qui se réalise transversalement par rapport au plan sagittal de l'embryon, forme une commissure reliant les ganglions ainsi que l'ébauche des troncs nerveux latéraux.

La trompe s'édifie à partir de quelques blastomères qui s'isolent en avant des ganglions cérébroïdes. Les cellules antérieures épithéliales se délaminent en donnant naissance à la poche de la trompe qui s'ouvrira plus tard à l'extérieur, tandis que la partie postérieure de l'ébauche produit les myoblastes et les cellules glandulaires de la trompe proprement dite.

L'appareil digestif s'organise à partir du blastème postérieur qui se creuse d'une cavité tapissée par l'épithélium interne du canal et de la poche du pharynx. Les myoblastes et ensuite les cellules glandulaires se différencient autour du canal pharyngien. L'intestin se forme seulement après l'éclosion, à partir des cellules oesophagiennes.

Les glandes génitales et les vitellogènes se différencient simultanément après migration de leurs initiales. Les organes du tractus génital s'édifient, chez Polycystis nägelii, à partir d'un petit blastème situé à l'arrière de l'ébauche pharyngienne et qui n'évolue pas avant la fin de la période embryonnaire.

10) Le développement de certains Calyptorhynques montre que plusieurs particularités de leur embryologie - tendance à la réduction du nombre des ovules par ponte, à l'allongement du développement embryonnaire, à la réalisation de certaines structures anatomiques à partir d'un nombre de plus en plus réduit de cellules - doivent être considérées comme des caractères adaptatifs à un mode de vie mésopsammique auquel la plupart des représentants de ce groupe sont très étroitement inféodés.

La comparaison du développement embryonnaire des Calyptorhynques et plus particulièrement de Polycystis nägelii avec celui des Typhloplanoïdes Mesostomides (Bresslau) révèle un certain nombre de concordances dans les premières étapes de la segmentation. Un nouvel argument d'ordre ontogénétique vient ainsi étayer l'hypothèse déjà ancienne d'une relation phylogénétique entre les Typhloplanoïdes Trigonostomides et les Calyptorhynques (von Graff , Ax).

D'après les modalités de leur segmentation, les Turbellariés considérés dans leur ensemble se classent en deux catégories bien tranchées. Chez presque tous les Endolécithophores et certains Ectolécithophores la segmentation est typiquement spirale. Le développement atypique par duettes des Acoeles et celui encore plus singulier des Triclades n'en constituent vraisemblablement que des variantes.

A ce développement fondamental s'oppose celui des Plagiostomoïdes, Dalyellioïdes, Typhloplanoïdes et Calyptorhynques dont la segmentation aberrante est caractérisée par un stade 2 constitué d'un micromère animal et d'un macromère végétatif. Malheureusement, les données embryologiques sur les Plagiostomoïdes, Dalyellioïdes et Typhloplanoïdes sont encore trop rares pour permettre d'éclairer leurs relations avec les autres Ordres de Turbellariés et en particulier avec les Endolécithophores dont ils sont certainement issus.

BIBLIOGRAPHIE.

ACCONCI, C., 1919. - Osservazioni sullo sviluppo delle planarie d'aque dolce. Bull. Ist. Zool. Univ. Palermo., 1, pp. 49-80.

APELT, G., 1969. - Fortpflanzungsbiologie, Entwicklungszyklen und vergleichende Frühentwicklung acoeler Turbellarien. Mar. Biol., 4, pp. 267-325.

AUSTIN, A. P., 1952. - Iron-alun aceto-carmine staining for chromosomes and others anatomical features of Rhodophyceae. Stain Technol, 34, pp. 69-75.

ARNOLD, G., 1909. - The prophase in the ovigenesis and the spermatogenesis of Planaria lactea O. F. M. (Deudrocoelum lacteum. Oerst). Arch. Zellfors ch., 3, pp. 431-438.

ARVY, L., 1957. - Contribution à la connaissance des "Corps bruns" des Holothurides. C. R. Acad. Sc., Paris, 245, pp. 2543-2545.

AX, P., 1951. - Die Turbellarien des Eulittorals der Kieler Bucht. Zool. Jahrb. Abt.Syst., 80, pp. 277-378.

AX, P., 1961. - Phylogenie und Verwandschaftsbeziehungen der Turbellarien. Ergebn. Biol., 24, pp. 1-68.

AX, P., 1963. - Relationships and phylogeny of the Turbellaria. in E. C. Dougerthy (ed), The lower Metazoa, Berkeley and Los Angeles, Univ. Calif. Press, pp. 191-224.

AX, P., 1969. - Populationsdynamik, Lebenszyklen und Fortpflanzungsbiologie der Mikrofauna des Meeressaudes. Verhandl. deutsch. Zool. Gesell., Innsbrück, pp. 66-113.

AX, P. et APELT, G., 1971. - Archaphanostoma agile (Turbellaria). Entwicklung. Film E 1138. Inst. Wiss. Film, Gottingen, 1971.

AX, P. et BORKOTT, H., 1969. - Organisation und Fortpflanzung von Macrostomum romanicum (Turbellaria Macrostomida). Ibid., pp. 344-347.

BARROIS, J. H., 1877. - Mémoire sur l'embryologie des Némertes. Masson. Paris.

BEAUCHAMP, P. M. de, 1930. - Le développement des Gastrotriches (Note préliminaire). Bull. Soc. Zool. Fr., 5, pp. 549-558.

BEAUCHAMP, P. M. de, 1961. - Classe des Turbellariés, Turbellaria (Ehrenberg 1831). Traité de zoologie, 4, (1), Masson éd., Paris.

BEKLEMISCHEV, W. N., 1963. - On the relationship of the Turbellaria to other groups of the animal kingdom. in E. C. Dougherty ed., The Lower Metazoa, Berkeley and Los Angeles, Univ. Calif. Press, pp. 234-244

BENAZZI, M., 1963. - Genetics of reproductive mechanisms and chromosome behavior in some fresh-water Triclads., Ibid., pp. 405-422.

BENEDEN, P. J. van, 1860. - Recherches sur la faune littorale de Belgique ; Turbellariés. Mém. Acad. Roy. Belgique, 32, pp. 1-56.

BERG, K., 1948. - Biological studies on the river Susaa. Fol. Limnol. Scand., 4, pp. 1-318.

BERGENDAL, D., 1890. - Studien über nordische Turbellarien und Nemertinen. Ofvers. Vetensk. Akad. Förh., Stockholm, 6, pp. 323-328.

BOGOMOLOV, S., 1949. - (Sur le type de segmentation des Rhabdocoeles). Ucen. Zap. Nr 113, ser. biolog. nauk, 20, pp. 128-142 (en russe).

BOGOMOLOV, S., 1957. - (Nouvelles données sur la segmentation de Convoluta et ses rapports avec le problème de l'origine du type de la segmentation spirale des animaux). Vtoroe Sovesc. embriol. SSSR, pp. 16-17 (en russe).

BOGOMOLOV, S., 1960 a. - (Sur la segmentation de Macrostomum rossicum Beklemischev 1951 et ses relations avec la segmentation des Turbellariés Coelata et Acoela). Tret'e bsesoj. Covesc. embriol., pp. 23-24 (en russe).

BOGOMOLOV, S., 1960 b. - (Le développement de Convoluta en rapport avec la morphologie des Turbellariés). Trudy Obshch. Estest. imp. Kazan. Univ., 63, (120), pp. 155-208.

BOHMIG, L., 1908 a. - Zur Spermiogenese der Triclade Procerodes gerlachei n. sp. Arch. Biol., 23, pp. 1-12.

BOHMIG, L., 1908 b. - Bemerkungen , den Bau und die Entwicklung der Spérmien von Plagiostomum girardi. (O. Schm.) betreffend. Zool. Anz., 33, pp. 331-336.

BOHMIG, L., 1912-1917. - Spermien und Spermiogenese in Bronn's Klassen, 4, Vermes, Abt. 1c, II. Tricladida, pp. 2961-2974.

BORDAS, M., 1921. - La profase de reducion en la ovogénesis de Dendrocoelum lacteum. Oerst. Trab. Mus. Nac. Cienc. Nat., Madrid, Ser. Zool ; n°41, pp. 1-101.

BOVERI, Th., 1899. - Die Entwicklung von Ascaris megalocephala mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschrifft zum siebenzigster Geburtstag von Carl von Kupffer, pp. 383-430.

BOYER, B.C., 1971. - Regulative development in a spiralian embryo as schow by cell deletion experiments on the Acoel, Childia. Exp. Zool, 176 (1), pp. 97-106.

BRINKMANN, A., 1905. - Studier over Danmarks rhabdocöle og acöle turbellarier. Viddensk. Meddel. Naturh. Foren. Köbenhaven, pp. 1-159.

BRUNET, M., 1965. - Turbellariés Calyptorhynques de substrats meubles de la région de Marseille. Rec. Trav. St. Mar. Endoume, 39, (55), pp. 128-219.

BURR, A., 1912. - Zur Fortpflanzungsgeschichte der Süsswassertricladen. Zool. Jahrb. Syst., 33, pp. 596-636.

CARLE, R., 1935. - Beiträge zur Embryologie der Landplanarien. Z. Morph. Okol. Tiere.

CAULLERY, M. et MESNIL, F., 1903. - Recherches sur les Fecampia Giard, Turbellariés Rhabdocoeles parasites internes des Crustacés. Ann. Fac. Sc. Marseille, 13, (4), pp. 1-37.

CHEVREMONT, M., 1958. - Cytologie et Histologie. Desoer ed. Liège, pp. 1-994.

CHILD, Ch. M., 1903. - Studies on regulation. I. Fission and regulation in Stenostoma. Arch. Entwickl. Mech. Org., 15, pp. 127-402.

CHRISTENSEN, A. M. et KANNEWORFF, B., 1964. - Kronborgia amphipodicola, gen. et sp. nov., a dioecious Turbellarian parasitizing Ampeliscid Ampipods. Ophelia, 1, pp. 147-166.

CHRISTENSEN, K., 1961. - Fine structure of an unusual spermatozaon in the flatworm Plagiostomum. Biol. Bull. 121, pp. 416.

CLAPAREDE, A. R. E., 1863. - Beobachtungen über Anatomie und Entwicklungsgeschichte wirbelloser Thiere an der Küste der Normandie angestellt. pp. 1-22.

COGNETTI de MARTIIS, L., 1922. - Contributo alla connoscenza della spermatogenesi dei Rhabdocoelidi. Arch. Zellforsch., 16, pp. 249-284.

COGNETTI de MARTIIS, L., 1923. - Lo spermio della Phaenocora jucunda Cogn., Arch. Zellforsch., 17, pp. 165-166.

CONKLIN, E. G., 1938. - Disorientations of development in Crepidula plana produced by low temperature, Proc. amer. philosoph. Soc., 79, pp. 79.

COSTELLO, D. P., 1937. - The early cleavage of Polychoerus carmelensis. Anat. Rec. 70, Suppl. 1, pp. 108-109.

COSTELLO, D.P., 1961. - On the orientation of centrioles in dividing cells, and its significance a new contribution to spindle mechanics. Biol. Bull. , 120, pp. 285-312.

COSTELLO, H. M. et COSTELLO, D.P., 1938. - Copulation in the acoelous turbellarian Polychoerus carmelensis. Biol. Bull., 75, pp. 85-98.

COSTELLO, H. M. et COSTELLO, D. P., 1939. - Egg laying in the acoelous turbellarian Polychoerus carmelensis. Biol. Bull., 96, pp. 80-89.

CURTIS, 1902. - The life story, the normal fission and the reproductive organs of Planaria maculata. Proc. Boston Soc. Nat. Hist., 30, pp. 515-559.

DAWYDOFF, C., 1928. - Traité d'embryologie comparée des Invertébrés. Masson éd., Paris, pp. 1-930.

DELAMARE-DEBOUTTEVILLE, Ch., 1960. - Biologie des eaux souterraines littorales et continentales, Hermann éd., Paris, pp. 1-740.

DENELL, R., 1949. - Earthworn chaetea. Nature, 164, pp. 370.

EVDONIN, L. A. et MINICHEV, Yn. S., 1969. - (The functionning of proboscis in Macrorhynchus crocea (Turbellaria, Neorhabdocoela, Kalyptorhynchia)). Zool. J., 48, pp. 925-927. (en russe, résumé en anglais).

FRANCOTTE, P., 1897. - Recherches sur la maturation, la fécondation et la segmentation chez les Polyclades. Mémoires Acad. Roy. Sc. Belg., 40, pp. 1-72.

FRANCOTTE, P., 1898. - Recherches sur la maturation, la fécondation et la segmentation chez les Polyclades. Arch. Zool. exp. gén., 6.

FRANZEN, A., 1956 a. - On spermiogenesis, morphology of the spermatozoon, and biology of fertilization among Invertebrates. Zool. Bidr., Uppsala, 31, pp. 355-482.

FRANZEN, A., 1956 b. - Investigations into spermiogenesis and sperm morphology among Invertebrates. Almquist et Wiksells, Uppsala, pp. 4-13.

FRANZEN, A., 1967. - Remarks on spermogenesis and morphology of the spermatozoon among the lower Metazoa. Zool. Bidr., Uppsala, 19, pp. 335-342.

FAURE, L., 1959. - Variations de la température et de la salinité de l'eau de mer aux environs de Roscoff. Rev. Trav. Office Pêches Mar., 23, (2), pp. 153-160.

FULINSKI, B., 1914. - Die Entwicklungsgeschichte von Dendrocoelum lacteum Oerst. I. Teil. Die erste Entwicklungsphase von Ei bis zu Embryonalpharynxbildung. Bull. Acad. Sc. Cracovie, Cl. Sc. Math. nat., sér. B., Sc. nat. pp. 145-190.

FULINSKI, B., 1916. - Die Keimblätterbildung bei Dendrocoelum lacteum Oerst. Zool. Anz , 47, pp. 380-400.

FULINSKI, B., 1938. - Zur Embryonalpharynxfrage der Trikladiden. Zool. Polon, 2, pp. 185-207.

GABE, M., 1968. - Techniques histologiques. Masson et Cie ed., Paris, pp. 1-1113.

GANTHER et JOLLES, 1969-1970. - Histochimie normale et pathologique. Gauthier Villars éd., Paris.

GARDINER, E. G., 1895. - Early development of Polychoerus caudatus Mark. J. Morph., 11, pp. 155-176.

GARDINER, E. G., 1898. - The growth of the ovum, formation of the polarbodies, and the fertilization in Polychoerus caudatus. J. Morph., 15, pp. 73-103.

GELEI, J. von, 1913. - Uber die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum. Arch. Zellfarsch, 11, pp. 51-150.

GELEI, J. von, 1921. - Weitere Studien über die Oogenese des Dendrocoelum lacteum II, Die Langskonjugation der Chromosomen. Ark. Zellfersch., 16 (1), pp. 88-169.

GELEI, J. von, 1922. - Weitere Studien über die Oogenese des Deudrocoelum lacteum III. Die Konjugations frage der Chromosomen in der Literatur und Meine Befunde. Ark. Zellforsch., 16 (3), pp. 299-370.

GEORGENITCH, J., 1899. - Etude sur le développement de Convoluta roscoffensis Graff. Arch. Zool. exper.gén., sér. 3, 7, pp. 343-361.

GIESA, S., 1966. - Die Embryonalentwicklung von Monocelis fusca Oersted (Turbellaria, Proseriata) Z. Morph. Okol. Tiere, 57, pp. 137-230.

GIESA, 1968. - Die Eikapseln der Proseriata (Turbellaria Neoophora). Z. Morph. Tiere 61, pp. 338-346.

GIESA, S., et AX, P., 1965. - Die Gastrulation der Proseriata als ein ursprünglicher Entwicklungsmodus der Turbellaria Neoophora, Venhandl Deutsch. zool. Gesell. Kiel. pp. 109-122.

GIRARD, Ch., 1850. - Embryonic development of Planocera elliptica. J. Acad. Nat. Sc. Philadelphia , 2, pp. 307-325.

GOETTE, A., 1878. - Zur Entwicklungsgeschichte der Seeplanarien Zool. Anz., I, (4), pp. 75-76.

GOETSCH, W., 1925. - Regeneration und Determination. Biol. Zentralbl., 45.

GOLDSCHMIDT, R., 1902. - Untersushungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung von Polystomum integerrimum Rud. Z. wiss. Zool., 71, pp. 397-444.

GOLDSCHMIDT, R., 1909. - Eischale, Schalendrüse und Dotterzellen der Trematoden. Zool. Anz., 34, pp. 481-497.

GRAFF, L. von, 1882. - Monographie der Turbellarien I. Rhabdocoelida. pp. 1-442, Leipzig.

GRAFF, L. von, 1904-1908. - Acoela und Rhabdocoelida. Bronns Kl. Ordn. Tirreschs 4, I c, pp. 1733-2599.

GRAFF, L. von, 1909. - Turbellaria, Strudelwürmer I. Allgemeines und Rhabdocoelida. Süsswasserf. Deutschl. 19, pp. 59-142.

GRAFF, L. von, 1913. - Turbellaria II. Rhabdocoelida. Das Tierreich, 35, pp. 1-484, Berlin.

GRALL, J.R. et JACQUES, G., 1964. - Etude dynamique et variations saisonnières du plancton de la région de Roscoff. I. Cah. Biol. Mar., 5, pp. 423-455.

HACKMANN, R. H., 1953. - Chemistry of insect Cuticle. 3. Hardening and darkening of the cuticle. Biochem. J., 54, pp. 371-377.

HALKIN, H., 1902. - Recherches sur la maturation, la fécondation et le développement du Polystomum integerrimum. Arch. Biol., 18, pp. 291-363.

HALLEZ, P., 1873. - Observations sur le Prostomum lineare. Arch. zool. exp. gén., 2, pp. 559-586.

HALLEZ, P., 1879. - Contribution à l'histoire naturelle des Turbellariés. Trav. Inst. zool. Lille et St . Mar. Wimereux, II, pp. 1-213.

HALLEZ, p. 1887. -Embryogénie des Dendrocoeles d'eau douce. Doin éd., Paris.

HALLEZ, P., 1909. - Biologie, Organisation, histologie et embryologie d'un Rhadocoele parasite du Cardium edule L., Paravortex cardii n. sp. Arch. zool. exp. gén., 9, pp. 429-544.

HAMMARSTEN, 1918. - Beitrag zur Embryonalentwicklung der Malacobdella grossa. Arbeit Zootom. Inst. Stockholms Högskola, 1.

HAMMERSCHMIDT, J., 1908. - Uber den feineren Bau und die Entwicklung der Spermien von Planaria lactea O. F. Mûller. Z. wiss. Zool., 91, pp. 297-303.

HARTOG, C. den, 1968. - Analysis of the Gnathorhynchidae (Neorhabdocoela Turbellaria) and the position of Psittacorhynchus verweyi, nov. gen., nov. sp. in this family. Proc. K. ned. Akad. Wet, (Ser. C), 71, pp. 335-345.

HENNEGUY, L. F., 1906. - Recherches sur le mode de formation de l'oeuf ectolécithe du Distomum hepatium. Arch. anat. micr., 9, pp. 47.

HENLEY, C., 1968. - Refractile bodies in the developping and nature spermatozoa of Childia groenlandica (Turbellaria : Acoela). Biol . Bull., 134, pp. 382-397.

HENDELBERG, J., 1965. - On different types of spermatozoa in Polycladida, Turbellaria. Ark. Zool., 18, pp. 267-304.

HENDELBERG, J., 1969 a. - On the development of different types of spermatozoa from spermatids with two flagella in the Turbellaria with remarks on the ultrastructure of the flagella. Zool. Bidr., Uppsala, 38 (1), pp. 1-50.

HENDELBERG, J., 1969 b. - Flatworms spermiogenesis and spermatozoa studied by light and electron microscope methods. Act. Univers. Uppsal., 140, pp. 1-12.

HENDELBERG, J., 1970. - On the number and ultrastructure of the flagella of Flatworm Spermatozoa. Acad. Naz. Lincei, 137, pp. 367-374. (Proc. 1st Intern. Symp. comparative spermatology, Romme Sienna).

HOFSTEN, N. von, 1909. - Uber frühzeilig Besamumg der Eizellen bei Otomesostoma auditivum (Forel und du Plessis). Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Turbellarienspermien. Zool. Anz., 34, pp. 431-443.

HOFSTEN, N. von, 1911. - Noch ein wort über die frühzeitige Besamung der Eizellen bei Otomesostoma auditivum. Ibid., 37, pp. 490-494.

HOFSTEN, N. von, 1912. - Eischale und dotterzellen bei Turbellarien und Trematoden. Zool. Anz., 39, pp. 111-136.

HOLMQUIST, Ch., 1967. - Turbellaria of Northern Alaska and North western Canada. Inst. Rev. ges. Hydrobiol., 52 (1), pp. 123-139.

HOXOLD, S., 1971. - Eigebilde interstitieller Kalyptorhynchier (Turbellaria) von der deutschen Nordseeküste. Akad. Wiss. Litt., Math. Naturwiss. Kl, (Mikrof. Muresbodens, 7) pp. 253-293.

HUSTED, L. et RUEBUSH, T. K., 1940. - A comparative cytological and morphogical study of Mesosostoma ehrenbergii ehrenbergii and Mesostoma ehrenbergi wardii. J. Morphol, 67, 387-410.

HYMAN, L. H., 1937. - Reproductive system and copulation in Amphiscolops langerhanse (Turbellaria. Acoela). Biol. Bull., 72, pp. 319-326.

HYMAN, L. H., 1951. - The Invertebrates. II. pp. 1-550. Mc Grave-Hill Book co., New York.

HYMANN, L. H., 1959. - The Invertebrates. V. pp. 1-783. Mc Grave-Hill Book Co., New-York.

IJIMA, J., 1884. - Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Süsswasser Dendrocoelen. Z. wiss. Zool., 40, pp. 359-464.

JAGERSTEN, G., 1959. - Further remarks on the early phylogeny of the Metazoa. Zool. Bidr. Uppsala, 33, pp. 79-108.

JAKUBISIAK, St., 1933. - Les Harpacticoïdes des eaux saumâtres de Roscoff. Bull. Soc. Zool. Fr., 58, pp. 13-17.

JENSEN, O.S., 1878. - Recherches sur la spermatogénèse. La spermatogénèse chez Plagiostomum vittatum Leuckart. Arch. Biol., 4, pp. 12-37.

JOHRI, L. N., 1957. - A morphological and histochemical study of egg formation in a Cyclophyllideau Cestode. Parasitol., 47, pp. 21-29.

JOHRI, L. N. et SMYTH, J. D., 1956. - A histochemical approach to the study of helminth morphology. Parasitol, 46, pp. 107-116.

KARLING, T. G., 1931. - Untersuchungen über Kalyptorhynchia (Turbellaria Rhabdocoela) aus dem Brackwasser des Finnischen Meerbusens. Acta zool. fenn., 11, pp. 1-66.

KARLING, T. G., 1940. - Zur Morphologie und Systematik der Alloeocoela Cumulata und Rhabdocoela Lecithophora (Turbellaria) Acta. zool. fenn., 26, pp. 1-260.

KARLING, T. G., 1947. - Studien über Kalyptorhynchia I. Die Familien Placorhynchidae und Gnathorhynchidae. Acta. zool. fenn, 50, pp. 1-64.

KARLING, T. G., 1949. - Studien über Kalyptorhynchia II. Die Familien Karkinorhynchidae und Diascorhynchidae. Ibid., 58, pp. 1-42.

KARLING, T. G., 1952. - Kalyptorhynchia (Turbellaria). Further Zool. Res. Swed. Antarct. Exp. 1901-1903, 4 (9), pp. 1-50.

KARLING, T. G., 1953. - Zur Kenntnis der Gattung Rogneda Uljanin. (Turbellaria Kalyptorhynchia). Ark. Zool., 5, pp. 349-370.

KARLING, T. G., 1956. - Morphologisch - histologische Untersuchungen an den mämlichen Atrialorganen der Kalyptorhynchia (Turbellaria). Ark. Zool., 9, pp. 187-279.

KARLING, T. G., 1963. - Die Turbellarien Ostfennoskandiens V. Neorhabdocoela 3. Kalyptorhynchia. Fauna Fenn., 17, pp. 1-59.

KARLING, T. G., 1967. - Zur Frage von dem systematischen Wert der Kategorien Archoophora und Neoophora (Turbellaria). Comm. Biol., 30 (3), pp. 1-11.

KATO, K., 1940. - On the development of some Japanese Polyclads. Jap. J. Zool., 8, pp. 537-573.

KATO, K., 1968. - Plathelminthes, in Kume et Dan (ed). Invertebrate Embryology. NOLIT. Belgrad. pp. 125-143.

KERFESTEIN, W., 1869. - Beiträge zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte einiger Seeplanarien von St-Malo. Abhandl. kön. Gesell. Wiss. Göttingen., Phys. Klasse, 14, pp. 3-38.

KLIMA, J., 1961. - Elektronenmikroskopische. Studien über die Feinstruktur der Tricladen (Turbellaria). Protoplasma, 54, pp. 101-162.

KLINCKOWSTROEM, A. V., 1897. - Beiträge zur Kenntnis der Eireifung und Befruchtung bei Prostheceraeus vittatus. Arch. mikr. Anat., 48, pp. 587-609.

KOLTZOFF, N. K., 1909. - Studien über die Gestalt der Zelle. II. Untersuchungen über das Kopfskelett des tierrieschen Spermium. Arch. Zellforsch., 2, pp. 1-65.

KNAPERT, B., 1865. - Bijdragen tot de Ontwikkelings Geschiedenis der zoet-water Planarien. Natuurkundige Verhandel., Utrecht.

KROMHOUT, 1943. - Protonephridia of freshwater, brakishwater and marine specimens of Gyratrix. Journ. Morph, 72, pp. 167-181.

KUME et DAN (ed). 1968. - Invertebrate embryology. NOLIT Belgrad.

LAFON, M., 1943. - Sur la structure et la composition chimique du tégument de la Limule (Xyphosura polyphemus L.). Bull. Inst. Océan. Monaco.

LANGERON, M., 1949. - Précis de miscroscopie. Masson et Cie éd., Paris, pp. 1-1430.

LE MOIGNE, A., 1963. - Etude du développement embryonnaire de Polycelis nigra. Bull. Soc. Zool. Fr., 88, pp. 403-422.

LEUCKART, K. G. F. R., 1886. - Die Parasiten des Menschen und die von ihnen heruhrenden. Krankheiten. 2e édition, Leipzig.

L'HARDY, J.-P., 1966. - Drepanorhynchides diodontus n. sp., nouveau Turbellarié Calyptorhynque de la famille des Gnathorhynchidae. Arch. Zool. exp. gén., 107 (3), pp. 419-425.

LISON, L., 1960. - Histochimie et cytochimie animales. 2 vol. Gauthier Villars éd., Paris.

LUTHER, A., 1904. - Die Eumesostominen Z. wiss. Zool., 77, pp. 1-159.

LUTZ, F. E., WELCH, P. S., GALTSOFF, P. S. et NEEDHAM, J. G., 1937. - Culture methods for invertebrate animals. Comstock Publishing Co., New-York.

MACK-FIRA, V., 1968. - Turbellariés de la Mer Noire. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 19 (2), pp. 179-182.

MARTOJA, R. et MARTOJA, M., 1966. - Initiation aux techniques de l'histologie animale? Masson et Cie, éd., Paris, pp. 1-345.

MATTIESEN, E., 1903. - Die Eireifung und Befruchtung der Süsswasserdendrocoelen. Zool. Anz., 27, pp. 34-39.

MATTIESEN, E., 1903 a. - Die Embryonalentwicklung der Süsswasserdendrocoelen. Zool. Anz., 27, pp. 81-87.

MATTIESEN, E., 1904. - Ein Beitrag zur Embryologie der Süsswasserdendrocoelen. Z. wiss. Zool., 77, pp. 274-361.

MAZIA, D., BREWER, P. et ALFERT, M., 1953. - Cystochemical staining and measurement of protein with bromophenol blue. Biol. Bull. Woods Hole, 104, pp. 57-67.

MEIXNER, J., 1923. - Uber den Bau des Geschlechtsapparates bei Calyptorhynchiern und die Bildung des Eistieles bei diesen und einigen anderen rhabdocoelen Turbellarien. Zool. Anz., 57, pp. 193-207.

MEIXNER, J., 1924. - Uber das Ovarium von Microstomum lineare und die Abscheidungsfolge des Schalen - und Dottermaterials bei Rhabdocoelen Turbellarien. Zool. Anz., 58, pp. 195-213.

MEIXNER, J., 1925. - Beitrag zur Morphologie und zum System der Turbellaria Rhabdocoela. I. Die Kalyptorhynchia. Z. Morph. Okol., 3, pp. 255-343.

MEIXNER, J., 1926. - Beitrag zur Morphologie und zum System der Turbellaria Rhabdocoela. II. Uber Typhlorhynchus nanus Laidlaw und die parasitischen Turbellarien nebst Nachträgen zu den Calyptorhynchia. Ibid., 5, pp. 577-624.

MEIXNER, J., 1928. - Aberrante Kalyptorhynchia (Turbellaria Rhabdocoela) aus dem Sande der Kieler Bucht I. Zool. Anz., 77, pp. 229-253.

MEIXNER, J., 1929. - Morphologisch - ökologische Studien an neuen Turbellarien aus dem Meeressande der Kieler Bucht. Z. Morph. Okol. Tiere., 14, pp. 765-791.

MEIXNER, J. 1938. - Turbellaria (Strudelwürmer). Tierwelt Nord - u. Ostsee, 46, pp. 1-146.

METSCHNIKOFF, E., 1882. - Die Embryologie von Planaria polychroa. Z. wiss. Zool., 38, pp. 331-345.

MONARD, A., 1935. - Etude sur la faune des Harpacticoïdes marins de Roscoff. Trav. St. Biol. Roscoff , 13, pp. 5-88.

MONNE, L., 1955. - On the histochemical properties of the egg envelop es and external cuticles of some parasitic Nematodes. Ark. Zool., 9, pp.93-113.

MULLER, H., 1903. - Beitrag zur Embryonalentwicklung der Ascaris Megalocephala. Zoologica, 17, pp. 1-30.

NEWTON, W. D., 1970. - Oögenesis of freshwater Turbellarian Hydrolimax grisea (Platyhelminthes, Plagiostomidae) with special reference to the history of the supernumerary asters and central bodies. J. Morph., 132, pp. 27-46.

NEWTON, W. D., 1971. - Gastrulation in the Turbellarian Hydrolimax grisea (Platyhelminthes, Plagiostomidae) formation of the epidermal cavity, inversion and epiboly. Biol. Bull., 139, pp. 539-548.

NURSE, F. R., 1950. - Quinone tanning in cocon-shell of Dendrocoelum lacteum. Nature, 165, pp. 570.

NUSSBAUM,J. et OXNER, M., 1913. - Embryoralentwicklung des Lineus ruber. Zeitschr. wiss. Zool., 107, pp. 78-197.

PAPI, F., 1951. - Recherche carilogiche sui Rabdocoeli I. Sopra alcuni rappresentanti della Fam. Typhloplanidae. Caryologia, 2, (2), pp. 113-126.

PAPI, F., 1952. - Recherche cariologiche sui Rhabdocoeli II. La meiosi nella linea germinale maschile di Opistomum pallidum O. Schm. Caryologia, 5, (1), pp. 123-132.

PAPI, F., 1953. - Beiträge zur Kenntnis der Macrostomiden (Turbellaria). Acta zool. fenn., 78, pp. 1-32.

PATTERSON, J. T., 1912. - Early developpment of Graffila gemellipara. A supposed case of Polyembryony. Biol. Bull. 22, pp. 173-204.

PEARSE, A. G. E., 1953. - Hsitochemistry. Churchill Ltd. London.

PEREYASLAWZEWA, S., 1885. - Sur le développement des Turbellariés. Zool. Anz., 8, pp. 269-271.

PEREYASLAWZEWA, S., 1893. - Monographie des Turbellariés de la Mer Noire. Mém. neo-russion Soc. Natur., 17, pp. 164-204.

PHILLIPS, H. M., 1936. - A cytological study of Macrostomum tuba von Graff. Zool. Anz., 114, pp. 322-330.

PRYOR, M. G. M., 1940. - On the hardening of the ootheca of Blatta. Proc. Roy. Soc. London, B, 128, pp. 378-393.

RAPEPORT, T., 1914. - Die Spermatogenese von Planaria alpina. Zool. Anz., 43, pp. 620-626.

RAPEPORT, T., 1915. - Zur Spermatogenese der Süsswasser - Tricladen. Arch. Zellforsch., 14, pp. 1-25.

REINHARDT, H., 1940. - Entwicklungsgechichte der Prostoma. Viertelgahr. Naturforsch. Gesell. Zürich, 86, pp. 184-255.

REISINGER, E., 1923. - Turbellaria, in Biologie der Tiere Deutschlands, 4, pp. 1-64.

REISINGER, E., 1926. - Nemertini in P. Schulze (ed.) Biologie der Tiere Deutschlands. Lief 17 (7), pp. 1-24.

REISINGER, E., 1935. - Ergebnisse einer von E. Reisinger und O. Steinböck mit Hilfe des Rask-Orsted Fonds durchgeführten Reise in Grönland 1926. 6. Proporoplana jenseni n. gen., n. spec ; ein morphologisch bedentsammer Turbellarientyp. Vidensk. Medd. Dansk. naturh. Foren., 98, pp. 243-259.

REISINGER, E., 1940. - Die cytologische Grundlage der parthenogenetischen Dioogonie. Chromos., 1, pp. 531-553.

REISINGER, E., 1955. - Kärntens Hochgebirgsturbellarien. Carinthia II. Mitteil. Naturw. Ver. Kärnten, Klagenfurt, 65, pp. 111-151.

REISINGER, E., 1960. - Was ist Xenoturbella. Z. wiss. Zool., 164, pp. 188-198.

REMANE, A., 1958. - Zur Vervandtschaft und Ableitung der niederen Metazoen. Verh. deutsch. zool. Ges., pp. 179-196.

REPIACHOFF, W., 1893. - Zur Spermatologie der Turbellarien. Z. wiss. Zool., 56 (1), pp. 117-137.

REUTER, M., 1961. - Untersuchungen über Rassenbildung bei Gyratrix hermaphroditus (Turbellaria Neorhabdocoela). Acta. zool. Fenn., 100, pp. 1-32.

RIXEN, J. U., 1961. - Kleinturbellarien aus dem Littoral der Binnengewässer Schleswig-Holsteins. Arch. Hydrobiol, 57, pp. 464-538.

ROMEIS, B., 1948. - Mikroskopische Technik. Leibniz Verlag, München.

ROSARIO, R., 1964. - An electron microscope study of spermatogenesis in Cestodes. J. Ultrastructure Res., 11, pp. 412-427.

RUEBUSH, T. K., 1938. - A comparative study of the Turbellarian chromosomes. Zool. Anz., 122, pp. 321-329.

RUHL, L., 1927. - Zur Kenntnis der Biologie, Fortpflanzung und Regeneration der rhabdocoelen Turbellarien. Inaug. Diss., Marburg, pp. 1-67.

SALENSKY, W., 1914. - Entwicklungsgeschichte der Prosorochmus Bull. Acad. Imp. Sc. St. Petersbourg, sér. 8, 33, pp. 1-39.

SCHILKE,K., 1970. - Kalyptorhynchia (Turbellaria) aus dem Eulittoral der deutschen Nordseeküste. Helgoland. wiss. Meeresunters., 21, pp. 143-265.

SCHLEIP, W., 1907. - Die Samenreifung bei den Planarien. Zool. Jahrb., Abt. Anat. 24, pp. 129-174.

SCHNEIDER, A., 1883. - Das Ei und seine Befruchtung. Bresslau.

SCHUBMANN, W., 1905. - Uber die Eibildung und Embryonalentwicklung von Fasciola hepatica L. Zool. Jahrb. Anat., 21, pp. 571-606.

SEILERN - ASPANG, 1956. - Frühentwicklung einer marinen Triclade (Procerodes lobata). Roux Arch. Entwickl. Mech. Org., 148, pp. 589-595.

SEILERN - ASPANG, 1957. - Die Entwicklung von Macrostomum appendiculatum (Fabricius). Zool. Jahrb., Abt. Anat. Ontog., 76, pp. 311-330.

SEILERN - ASPANG, 1958. - Entwicklungsgeschichtliche Studien an Paludicolen Tricladen. Roux Arch. Entwick . Mech. Org., 150, pp. 425-480.

SEKERA, E., 1903. - Erneute Untersuchungen über die Geschlechtsverhältnisse der Stenostomiden, Zool. Anz., 26, pp. 537-544.

SEKERA, E., 1906. - Uber die Verbreitung der Selbstbefruchtung bei den Rhabdocoeliden. Zool. Anz., 30, pp. 143-153.

SEKERA, E., 1911. - Weitere Beiträge zu den Doppelbildungen bei den Turbellarien. Sitzgsber. böhm. Ges. Wiss, II Cl., 12.

SEKERA, E., 1912. - Studien über Turbellarien. Sitz. böhn. Ges. Wiss., II Cl., 13, pp. 1-38.

SEKERA, E., 1933. - Zur Kenntnis der Lebenweise der Art Polycystis goettei. Zool. Anz., 101, pp. 169-178.

SELENKA, E., 1881 a. - Zoologische Studien. II. Zur Entwicklungsgeschichte der Seeplanarien. Leipzig, pp. 1-36.

SELENKA, E., 1881 b. - Zur Entwicklungsgeschichte der Seeplanarien. Biol. Zentr., 1, pp. 229-239.

SERRA, F., 1947. - Osservazzioni sull evoluzione della cellula vitellina nell bozzolo di planarie. P.V. Soc. Tosc. Sc. Nat., 54, (3), pp. 33-36.

SHARMA A. K. et SHARMA, A., 1965. - Chromosome Techniques.Theory and Practice. Butterworths éd., London.

SILVEIRA, M. et PORTER, K. R., 1964. - The spermatozoids of flatworms and their microtubular system. Protoplasma, 59, pp. 240-265.

SKAER, R. J., 1961. - Some aspects of the cytology of Polycelis nigra. Quat. J. micr. Sc., 102, pp. 295.-317.

SMYTH, J.D., 1951 a. - Egg-shell formation in Trematodes and Cestodes as demonstrated by the methyl or malachite green techniques. Nature, 168, pp. 322-323.

SMYTH, J. D., 1951 b. - Specific staining of egg-shell material in Trematodes and Cestodes. Stain Technol., 26, pp. 255-256.

SMYTH, J. D., 1954. - A technic for histochemical demonstration of polyphenol oxydase and its application to egg-shell formation and byssus formation in Mytilus. Quat. J. microscop. Sc., 95, pp. 139-152.

SMYTH, J. D., 1956. - Studies on tapeworm physiology. IX. A histochemical study of egg-shell formation in Schistocephalus solidus (Pseudophyllidea Exp. Parasitol., 5, pp. 519-540.

SMYTH, J. D. et Clegg, J. A., 1959. - Egg-shell in Trematodes and Cestodes Exp. Parasitol., 8, pp. 286-323.

STEINMANN, P. et BRESSLAU, E., 1913. - Die Strudelwürmer (Turbellaria). Monographien einheimischer Tiere. Ziegler et Woltereck ed., Leipzig.

STEINBOCK, O. et AUSSERHOFER, B., 1950. - Zwei grundverschiedene Entwicklung sablaüfe einer Art(Prorhynchus stagnalis M. Sch., Turbellaria). Wilhelm Roux'Arch. Entwickl. Mech. Org., 144, pp. 155-177.

SURFACE, F.M., 1907. - The early development of a Polyclad Planocera inquilina. Proc. Acad. Nat. Sc. Phila., 59, pp. 514-559.

SWEDMARK, B., 1955. - Développement d'un Gastrotriche Macrodasyoïde Macrodasys affinis Remane. C. R. Acad. Sc. Paris, 240, pp. 1812-1814.

SWEDMARK, B., 1955 a. - Recherches sur la Morphologie, le développement et la biologie de Psammodrilus balanoglossoïdes, Polychète Sedentaire de la microfaune des sables. Arch. zool. exp. gén., 92, pp. 141-220

SWEDMARK, B., 1959. - On the biology of sexual reproduction of the interstitial fauna of marine sands. Proc. 15th Int. Congr. Zool. London, 158, pp. 327-329.

SWEDMARK, B., 1964. - The interstitial fauna of marine sand. Biol. Rev., 39, pp. 1-42.

TEUCHERT, G., 1968. - Zur Fortpflanzung und Entwicklung der Macrodasyoïdea (Gastrotricha) Z. Morph. Tiere, 63, pp. 343-418.

TOEDTMANN, W., 1913. - Die Schalenbildung des Eicocons bei Turbellarien. Arch. Hydrobiol. Planktonk., 8.

TYZZER, E. E., 1918. - A monostome of the genns Collyriclum occuring in the European sparrow, with observations of the ovum. J. Med. Res., 33, pp. 267-292.

UJIIE, N., 1936. -(On the process of egg-shell formation of Clonorchis sinensis, a liver-fluke) J. Med. Assoc. Formosa, 35, pp. 1894-1896. (en chinois, résumé en anglais).

VAILLANT, 1866. - Remarques sur le développement d'une planariée dendrocoele : Polycelis laevigatus. Mém. Acad. Montpellier, 7, pp. 93-108.

VALCURONE, M., 1953. - Richerche istochimiche sui granulivitellini dei Policladi. Arch. zool. ital., 38, pp. 245-267.

VALKANOV, A., 1938. - Cytologische Untersuchungen über den Rhabdocoelen. Jahr. Univ. Sofia, Phys.-Math. Fak., 34, (3), pp. 321-402.

VAN DER STRICHT, O., 1896 a. - La maturation et la fécondation de l'oeuf de Thysanozoon brochii. Ass. Fr. Av. Sc., Congrès de Carthage, 1896.

VAN DER STRICHT, O., 1896 b. - Le premier amphiaster de rebut de l'ovule de Thysanozoon brochii. Bibliogr. anat., 1.

VIALLI, M., 1933. - Ricerche istochimiche sui vitellogeni dei Platelminti. Boll. zool., 4, pp. 135-138.

VIALLI, M., 1934. - Ricerche istochimiche sui granuli vitellini dei policladi.

VIALLI, M., 1950. - Fenoli e tannazione chinonica delle proteine. Monit. zool. ital., 58, pp. 83-87.

VOIGT, W., 1894. - Die Ungeschletliche Fortpflanzung der Turbellarien. Biol. Centralbl., 14, pp. 745-751, 771-777.

VOSS, H. von, 1914. - Cytologische Studien an Mesostoma ehrenbergi. Arch. Zellforsch., 12, pp. 159-194.

VOVELLE, J., 1965. - Le tube de Sabellaria alveolata (L.). Annélide Polychète Hermellidae et son ciment. Etude écologique, expérimentale, histologique et histochimique. Arch. zool.exp. gén., 106, pp. 1-187.

WESTBLAD, E., 1946. - Studien über skandinavische Acoela. IV. Ark. Zool., 38 A (1), pp. 1-56.

WESTBLAD, E., 1948. - Studien über skandinarische Acoela. V. Ibid., 41 A (7), pp. 1-82.

WEYGANDT, C., 1907. - Beiträge zur kenntnis der Spermatogenese bei Plagiostoma girardi. Z. wiss. Zool., 88, pp. 249-290.

WILHELMI, J., 1903. - Platodaria, Plattiere. Handt. Morph. wirbellosen Tiere, 3 (1), pp. 1-146.

WILHELMI, J., 1909. - Tricladen. Fauna und Flora des golfes von Neapel, 32, pp. 1-401.

ZUR STRASSEN, O;, 1896. - Embryonalentwicklung der Ascaris Megalocephala. Arch. Entwickl. Mech. Org., 3, pp. 191-235.